9º SIMPÓSIO DE VITIVINICULTURA DO ALENTEJO

15-16-17 MAIO

ÉVORA - PORTUGAL

LIVRO DE ATAS
VOLUME 2

2013



9º SIMPÓSIO DE VITIVINICULTURA DO ALENTEJO

15 - 16 - 17 DE MAIO 2013

Organizado por

ATEVA - Associação Técnica dos Viticultores do Alentejo

CVRA - Comissão Vitivinícola Regional Alentejana

CCDRA - Comissão de Coordenação e Desenvolvimento da Região Alentejo

DRAPAL - Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Alentejo

UE – Universidade de Évora

Com o apoio de:







VOLUME 2

INDICE

Oliveira e Silva P., Ramôa S., Mendes S., Amaral A., Guerreiro C., Boteta L., Fernandes A. Influência da Rega Deficitária Controlada (RDC) em vinha no Baixo Alentejo	7
João M. BARROSO; Luis POMBEIRO TÉCNICAS CULTURAIS IMPORTANTES PARA ORIENTAR A PRODUTIVIDADE E A QUALIDADE DA VITIVINICULTURA	
NO ALENTEJO	19
María José SERRANO; José Antonio PÉREZ; Rocío GUTIÉRREZ; Enrique CANSECO MEJORA DE LAS CUALIDADES ORGANOLÉPTICAS EN LA VARIEDAD RED GLOBE MEDIANTE TÉCNICAS DE CULTIVO (POSTER)	35
EGIPTO, Ricardo; LOPES, Carlos M.; PEDROSO, Vanda; BRAGA, Ricardo; NETO, Miguel & PINTO, Pedro A. RELAÇÕES ENTRE ÍNDICES BIOCLIMÁTICOS E COMPOSIÇÃO DA UVA À VINDIMA: COMPARAÇÃO ENTRE ÍNDICES CLÁSSICOS E NOVOS	
ÍNDICES	43
Rogério de CASTRO; Amândio CRUZ; Carlos RODRIGUES; Jorge CORREIA; Ricardo COSTA; Miguel GUERREIRO; Joana de CASTRO ALTERNATIVAS DE PLANTAÇÃO DA VINHA NA REGIÃO VINHOS VERDES: TUBOS PROTECTORES, AGROBIOFILM OU SOLO NU	53
Manuel BOTELHO; Amândio CRUZ, Henrique RIBEIRO, António ANACLETO, Bento ROGADO, Erica CABRAL, Jorge RICARDO-DA-SILVA, António MEXIA, Olga LAUREANO, Ernesto VASCONCELOS, Rogério de CASTRO PODA MECÂNICA E APLICAÇÃO DE DIFERENTES CORRETIVOS ORGÂNICOS: EFEITO SOBRE A ESTRUTURA DO COBERTO VEGETAL, MICROCLIMA, RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DAS UVAS NA CASTA 'SYRAH'	63
A LIAMBRADE W. I. DEDDOGO GW. MEY AND A MAYOU	
Isabel ANDRADE; Vanda PEDROSO; Cátia MELANDA; Leonor NOVAIS; Sandra COELHO; Carlos LOPES	
A DESFOLHA DA VINHA. CASOS DE ESTUDO NAS REGIÕES DO DÃO E BAIRRADA	75

J. YUSTE; S. LÓPEZ-MIRANDA; R. YUSTE	
PRODUCTIVE, VEGETATIVE AND QUALITATIVE PERFORMANCE OF	
YUSTE PRUNING SYSTEM ON cv. VERDEJO DURING A 3-YEARS PERIOD	
IN THE DUERO RIVER VALLEY	85
Luís GASPAR; Helena FERREIRA; Óscar GATO; João BARROSO	
CONTRIBUIÇÃO PARA A CARACTERIZAÇÃO DOS DIFERENTES	
"TERROIRS" NA SUB-REGIÃO DE BORBA DOC ALENTEJO (poster)	97
Pilar RAMÍREZ, Jesús LASHERAS, Juan Manuel LEÓN, Virginia GONZÁLEZ	
EFECTO DE LA PODA MECANIZADA EN EL VIGOR, RENDIMIENTO Y	
CALIDAD DE LA UVA. PRIMEROS RESULTADOS. (POSTER)	109
Jorge CORREIA; Amândio CRUZ; Bento ROGADO; Pedro CLÍMACO; Rogério de CASTRO	
EFEITO DA ÉPOCA E INTENSIDADE DE DESFOLHA NA CASTA	
SAUVIGNON (poster)	117
Teles J.M.; Barbosa P.; Olazabal F.; Queiroz J.; Oliveira M.	
SOMBREAMENTO PARCIAL DO COPADO DA VINHA: ALTERAÇÕES	
NAS COMPONENTES DA PRODUÇÃO E CARACTERÍSTICAS DOS MOSTOS	
(POSTER)	129
João PORTUGAL; Isabel M. CALHA; F GONZALEZ-TORRALVA; R ROLDAN; R	
DEPRADO	
RESISTÊNCIA AO GLIFOSATO EM VINHAS DO DOURO	139
Ricardo CHAGAS; Ana VAZ; Helena OLIVEIRA; António FERREIRA;	
Sara MONTEIRO; Ricardo Boavida FERREIRA	
TOMOGRAFIA COMPUTORIZADA PARA A LOCALIZAÇÃO PRECISA	
E NÃO DESTRUTIVA DE ESTÁDIOS INICIAIS DE "ESCA" DA VIDEIRA	149
Cristina CARLOS; Fátima GONÇALVES; Susana SOUSA; M. Carmo VAL; Branca	
TEIXEIRA; Cátia MELANDA; Luís SILVA; Isabel GARCIA-CABRAL; Laura TORRES	
Ephestia unicolorella woodiella E Cadra figulilella: DUAS NOVAS	
"TRAÇAS-DA-UVA" PRESENTES NAS VINHAS DO DOURO	159
Esmeraldina SOUSA; Katia TEIXEIRA; Anabela ANDRADE; José GUERNER; Gisela CHICALI: Céu MIMOSO	

FLAVESCÊNCIA DOURADA EM PORTUGAL: SINTOMATOLOGIA, RISCOS DE DISPERSÃO E CONTROLO	167
Pedro REIS, Teresa NASCIMENTO, Ana CABRAL, Helena OLIVEIRA, Cecília REGO DECLÍNIO DAS VIDEIRAS JOVENS: RESULTADOS DE UM ESTUDO REALIZADO NUMA VINHA DA REGIÃO DO ALENTEJO	177
Margarida CARDOSO; Inês DINIZ; Ana CABRAL; Cecília REGO; Helena OLIVEIRA PÉ NEGRO DA VIDEIRA: FONTES DE INÓCULO EM VIVEIRO COMERCIAL	187
João BARRETO CYFLAMID - UM NOVO ANTI-OÍDIO PARA A VINHA (poster)	199
Jorge SOFIA; Teresa NASCIMENTO; Maria Teresa GONÇALVES and Cecília REGO GRAPEVINE FUNGAL TRUNK DISEASES IN THE DÃO WINE REGION (POSTER)	209
Pedro REIS; Helena OLIVEIRA AGENTES CAUSAIS DO PÉ NEGRO DA VIDEIRA ASSOCIADOS A RAÍZES DE INFESTANTES DA VINHA (poster)	221
António Manuel DUARTE; Vincent ABELA DOURO E PENCOL: UTILIZAÇÃO SEGURA DO PENCONAZOL PARA VINHOS EXPORTADOS FORA DA EU (poster)	231
Bebiana MONTEIRO; Elisete CORREIA e Alice VILELA ESTUDO DO PERFIL SENSORIAL DE VINHOS DO PORTO BRANCO, RUBY E TAWNY PRESENTES NO MERCADO PORTUGUÊS	237
AMORIM, Luis; SIMÕES, Dora; GINÓ, José; MACHADO, Beatriz ANÁLISE SENSORIAL APLICADA À CERTIFICAÇÃO DE VINHO: UM ESTUDO SOBRE COMO TREINAR, OUALIFICAR, VALIDAR E MONITORIZAR O DESEMPENHO	
DE UM PAINEL SENSORIAL PROFISSIONAL A. J. Coutinho; Jorge RICARDO-DA-SILVA; Patrícia Durães Ávila	247
A CONTRIBUTION TO THE SENSORY PROFILE OF REGIONAL RED WINES FROM GEOGRAPHICAL INDICATIONS OF MAINLAND PORTUGAL	261

Francisco SOARES; Maria Teresa CHICAU; Sara PROENÇA; Goreti BOTELHO	
ROTA DOS VINHOS DO ALENTEJO: APLICAÇÃO DA ANÁLISE SWOT PARA	
AUXILIAR NA CONSTRUÇÃO DE UM PROJETO DE DINAMIZAÇÃO	277
Mário AGOSTINHO; Nuno VILELA; Orlando RAMOS	
LINKING INTERNATIONAL TRADE AND ENVIRONMENTAL	
SUSTAINABILITY, DIFFERENTIATION OF WINE BRANDS AND	
COMPANIES IN EXTERNAL MARKETS	289

INFLUÊNCIA DA REGA DEFICITÁRIA CONTROLADA (RDC) EM VINHA NO BAIXO ALENTEJO

Oliveira e Silva P.¹, Ramôa S.¹, Mendes S.², Amaral A.³, Guerreiro C.⁴, Boteta L.⁴, Fernandes A.¹

RESUMO

Na região Mediterrânica, a água é o principal fator limitante da produção agrícola, sendo importante a utilização de tecnologias economizadoras de água. Neste trabalho apresenta-se os principais resultados da avaliação de três estratégias de rega deficitária controlada (RDC) em vinha (*Vitis vinifera* L.), casta Aragonez, em condições de clima mediterrânico. Os dados foram obtidos, no âmbito do Projeto RITECA II, durante o ano 2012, na Herdade de Monte Novo e Figueirinha (Beja), em solos argilosos pouco profundos, regados gota a gota, com as dotações aproximadas de 200 mm, 150 mm e 100 mm. Não se observou um efeito significativo (P < 0,05) das dotações utilizadas sobre a quantidade de uva produzida e as características das uvas e do mosto, à data de colheita, sugerindo que é possível uma redução sustentável da água aplicada.

Palavras-chave: Vitis vinífera L., casta Aragonez, clima mediterrânico, rega localizada, produção.

ABSTRACT

Water is the main limiting factor in agricultural production in the Mediterranean region therefore it is important to use water-saving strategies. This work presents the main results of the assessment of three irrigation treatments based on regulated deficit irrigation (RDC) in vine (*Vitis vinifera* L.), casta Aragonez in Mediterranean climate conditions. Data were collected under the Project RITECA II, during the year 2012, in Herdade de Monte Novo e Figueirinha (Beja), in clay soils, using drip

⁻

¹ Departamento de Biociências, Escola Superior Agrária de Beja, Rua Pedro Soares, Apartado 6158, 7800-908 Beja, Portugal pedrosilva@ipbeja.pt, sramoa@ipbeja.pt, alfernandes@ipbeja.pt

² Bolseiro do Projecto Riteca II, Departamento de Biociências, Escola Superior Agrária de Beja, Rua Pedro Soares, Apartado 6158, 7800-908 Beja, Portugal <u>simaomendes 28@gmail.com</u>

³ Departamento de Tecnologia e Ciências Aplicadas, Escola Superior Agrária de Beja, Rua Pedro Soares, Apartado 6158, 7800-908 Beja, Portugal <u>anabela amaral@ipbeja.pt</u>

⁴ Centro Operativo e de Tecnologia de Regadio, Quinta da Saúde, Apartado 354, 7801-904 Beja, Portugal <u>cristina.guerreiro@cotr.pt</u>, <u>luis.boteta@cotr.pt</u>

irrigation system, with irrigation rates of 200 mm, 150 mm and 100 mm. There was no statistically significant effect (P < 0.05) on quantity and quality of the grapes between the different irrigation treatment suggesting that it is possible to reduce the water irrigation in a sustainable way.

Key-words: Vitis vinifera L., casta Aragonez, Mediterranean climate, drip irrigation, production.

INTRODUCÃO

Na região Mediterrânica a água é o principal fator limitante da produção agrícola, situação que os modelos de alterações climáticas preveem se agrave no futuro (Cifre e outros, 2005). Nestas condições de carência hídrica, a gestão da rega será cada vez mais orientada para a maximização da produtividade da água, sendo a rega deficitária uma forma de reduzir o seu consumo (Fereres e Soriano, 2007). Segundo os autores o sucesso da rega deficitária em fruticultura e, nomeadamente, na vinha deve-se a fatores como a maior influência da qualidade da produção no resultado económico, a menor sensibilidade dessas culturas ao défice hídrico nalgumas fases do ciclo, a utilização de equipamentos de rega que facilitam a gestão do stress e as características do coberto, em que a redução da condutância estomática permite uma maior economia de água. Uma possível estratégia é o recurso à rega deficitária controlada (RDC), em que as plantas são sujeitas, durante um determinado período do ciclo cultural, a um certo nível de stress, que pode influenciar positivamente a produção e a qualidade do produto. No caso da vinha o objetivo é otimizar, através do equilíbrio entre o vigor da vinha e a sua produção potencial, o número de frutos, o seu tamanho e a sua qualidade (Chaves e outros, 2010). Na rega deficitária a gestão do nível de *stress* assume particular importância, requerendo um controlo adequado do estado hídrico da planta ou do solo, apresentando os métodos baseados na planta, cuja utilização é analisada por Jones (2004) e, na cultura da vinha, por Cifre e outros (2005), vantagens no caso das fruteiras (Jones, 2004; Fereres e Soriano, 2007). A câmara de pressão é considerada a técnica de referência para monitorização do potencial hídrico na planta, mas tem a desvantagem de ser exigente em mão de obra e não permitir a automatização da rega (Jones, 2004). Os valores do potencial são medidos em folhas que, quando se pretende estejam em equilíbrio com o potencial no ramo, são previamente envoltas em plástico e alumínio. Os valores podem ser medidos em diferentes períodos do dia, sendo frequente a utilização de valores obtidos próximo do meio-dia solar, encontrando-se referência a uma correlação elevada entre esta

medição e o estado hídrico ou a resposta agronómica da vinha (Williams e Araujo, 2002; Pilar e outros, 2007). Acevedo-Opazo e outros (2010) referem que a monitorização do estado hídrico da vinha, utilizando um indicador fiável, pode permitir o desenvolvimento de métodos de condução de rega que auxiliem o viticultor na utilização da rega deficitária controlada. A estratégia de rega pode ser estabelecida tendo como orientação a intensidade de *stress* hídrico, a induzir em cada fase do ciclo da videira, de acordo com as características pretendidas para o produto final (Gurovich e Vergara, 2005; Ojeda, 2007).

Fanizza e outros (1991) referem que a modificação da cor das folhas pode ser utilizado para a condução da rega na vinha, variável que pode ser medida utilizando medidores portáteis do teor de clorofila, encontrando-se uma comparação da sua utilização em Richardson e outros (2002).

Neste trabalho apresenta-se uma primeira análise dos resultados obtidos no ano de 2012, utilizando três estratégias de rega deficitária controlada, em que os níveis de *stress* hídrico foram estabelecidos tendo como orientação valores indicativos do potencial hídrico xilémico. O estudo decorreu no âmbito do Projeto Rede de investigação Transfronteiriça de Extremadura, Centro e Alentejo (RITECA - fase II), cofinanciado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER), através do programa operacional de cooperação transfronteiriça Espanha - Portugal (POCTEP) 2007 - 2013.

MATERIAL E MÉTODOS

O campo experimental localiza-se no concelho de Beja, numa exploração agrícola comercial, a Herdade do Monte Novo da Figueirinha (38°03'N; 7° 55'O; 199 m de altitude). A vinha tem cerca de 40 ha de uva tinta, encontrando-se o ensaio localizado numa parcela ocupada pela casta Aragonez, implantada com um compasso 2,8 m x 1,1 m e conduzida em cordão bilateral. Neste local decorrem, desde 2007, ensaios de rega deficitária em vinha encontrando-se em Arruda Pacheco e outros (2008) uma caracterização detalhada do campo experimental e da metodologia inicialmente utilizada na avaliação do efeito das estratégias de rega deficitária que, com algumas modificações, foi utilizada no ano de 2012.

O local caracteriza-se por uma topografía plana e deficiente drenagem externa. Os solos,

de potencial produtivo moderado para a cultura da vinha regada, são delgados, argilosos, com alguma a bastante pedregosidade, assentes sobre material rochoso de gabro-diorito pouco fissurado. A compacidade é elevada conduzindo a uma densidade radicular muito baixa na entrelinha em que apenas poucas raízes têm capacidade de penetração nas fissuras da rocha.

O clima mediterrânico regional é, na classificação de Köppen, mesotérmico húmido com estação seca e quente no Verão (Csa) (Reis e Gonçalves, 1987). Os valores observados no ano de 2012 na Estação Meteorológica da Quinta da Saúde do Centro Operativo e de Tecnologia de Regadio (COTR) (latitude 38° 02' N, longitude 7° 53' W e altitude 206 m) localizada a cerca de 1 km do local onde decorreu o ensaio de campo, e em condições topográficas semelhantes, apresentam-se na Figura 1.

BEJA - Ano de 2012 350 30 300 25 250 20 H 200 15 8 150 10 100 50 n MAR JAN FEV ARR MAI JUN JUL AGO SET OUT NOV

Termopluviograma e Evapotranpiração de Referência

Figura 1 - Elementos climáticos no ano de 2012.

Pmm Pmm

ET0 mm

O sistema de rega gota-a-gota é constituído por gotejadores auto-compensantes, com débito 2.2 l.h⁻¹, embebidos e distanciados entre si de 1m. O diâmetro dos tubos usados foi de 16 mm. Para cada uma das dotações de rega, foi estendido tubo cego ao longo da linha, tendo apenas sido colocado tubo com gotejadores na zona correspondente ao tratamento em questão. A rega, automática, foi programada através de um programador e a quantidade de água aplicada foi monitorizada por udómetros automáticos.

O ensaio foi delineado em blocos casualizados, com três repetições. As modalidades, no ano de 2012, incluíram três estratégias de rega deficitária controlada, estabelecidas tendo como orientação a intensidade de *stress* hídrico, quantificada através do potencial hídrico xilémico. Os valores indicativos do potencial hídrico a manter nas três modalidades foram os seguintes: -0.80 até ao pintor e -0.90 no período pintor-colheita, em RDC1; -0.95 até ao pintor e -1.05 no período pintor-colheita, em RDC2; -1.05 até ao pintor e -1.35 no período pintor-colheita, em RDC3. As dotações de rega foram definidas semanalmente tendo por base as medições do potencial hídrico xilémico e os valores da evapotranspiração de referência (ET₀), calculada pelo método de Penman-Monteith a partir da informação meteorológica obtida na estação da Quinta da Saúde, e dos coeficientes culturais estabelecidos pelo COTR para a cultura da vinha para vinho na região de Beja. No Quadro 1 apresentam-se os valores em mm das quantidades de água aplicadas em cada modalidade, no ano de 2012, da precipitação efetiva e da evapotranspiração de referência (ET₀) durante o ciclo cultural.

Quadro 1 - Dotações de rega, precipitação e evapotranspiração de referência durante o ciclo cultural.

		RDC1	RDC2	RDC3		
Rega (mm)	Até ao final do Pintor	114.2	88.0	58.7		
	Até à Colheita	219.4	152.5	95.2		
Precipitação Efetiva (mm)		97.2				
ET ₀ (mm)		970.8				

O teor de água no solo foi monitorizado semanalmente nas repetições de cada modalidade utilizando a sonda de neutrões Troxler 4300. Os 9 tubos de acesso estão localizados na linha, a uma profundidade que varia entre os 0.50 e os 0.80 m, limitada pelo excesso de pedregosidade e pela existência de uma camada rochosa a cerca de 0.80 m. A partir dos valores da humidade em volume observados e dos perfís obtidos em solo seco e húmido calculou-se, para a camada 0-0.50 m o valor da água transpirável total (TTSW), da água utilizável (ASW) e da fração da água transpirável (FTSW).

Para avaliação do efeito das estratégias de rega estudadas sobre a cultura da vinha foram identificadas 10 cepas por repetição, nas duas linhas centrais de cada modalidade, sobre as quais foram quantificados os parâmetros obtidos no final do ciclo: produção e com-

ponentes da produção e peso da lenha de poda total. De entre estas foram escolhidas aleatoriamente 2 cepas, que foram monitorizadas semanalmente, desde finais de Maio até meados de Outubro. As medições foram efetuadas em folhas adultas, em bom estado físico e sanitário, situadas no terço médio da videira. O potencial xilémico a meio do dia foi determinado utilizando uma câmara de pressão do tipo descrito por Scholander, tendo-se quantificado o potencial em 2 folhas por planta, previamente cobertas com plástico e envoltas em papel de alumínio. A resistência estomática foi medida com o porómetro AP4 da Delta-T Devices, em 3 folhas por planta. O teor de clorofila foi medido utilizando um medidor portátil Hansatech Instruments CL-01, em 3 folhas por planta. A caracterização da composição do fruto foi efetuada em amostras de 200 bagos obtidos por amostragem aleatória nas uvas colhidas em cada modalidade e repetição. O teor de sólidos solúveis foi quantificado por refratometria e a acidez total foi determinada por titulação na presença de azul de bromotimol. Para extração das antocianas utilizou-se o método de Glories e no seu doseamento o método da diferença de pH de Ribéreau-Gayon e Stonestreet. O índice de polifenóis totais foi quantificado pelo método espectrofotométrico a 280 nm.

O desenvolvimento da vinha foi avaliado seguindo a metodologia descrita por Baggiolini (1952).

Para avaliar o efeito do fator estratégia de rega os dados obtidos experimentalmente foram submetidos a análise de variância, baseando-se o modelo geral de análise no delineamento experimental adotado. Para incluir na mesma análise de variância observações repetidas no tempo foi integrado no modelo o fator leitura, como uma subdivisão (splitplot) da unidade experimental mais pequena (Gomez e Gomez, 1984). Nos casos em que a análise de variância revelou a existência de um efeito significativo (P < 0.05) dos fatores analisados ou da sua interação utilizou-se o teste da diferença mínima significativa, para um nível de significância a = 0.05, para localização das diferenças entre os valores médios respetivos.

RESULTADOS E SUA DISCUSSÃO

	Fase do Ciclo	Gomo de Algodão	Ponta Verde	Cachos Visíveis	Floração	Bago de Ervilha	Pintor	Maturação	Vindima
[Dia do Ano	74	84	105	140	161	196	232	256

Quadro 2 – Fenologia da vinha no ano de 2012.

Modalidade	Produção (kg.cepa ⁻¹)	Número de Cachos / Cepa	Número de Bagos / Cepa	Peso de 100 Bagos (g)	Peso da Lenha de Poda Total (kg.cepa ⁻¹)	Eficiência d Uso da Águ de Rega (g.mm ⁻¹)
RDC1	4.89	11.4	4205	116	0.974	22.3
RDC2	4.34	11.5	3750	116	0.959	28.5
RDC3	4.31	10.1	3980	109	0.876	45.3
Média	4.52	11.0	3978	114	0.936	
Nível de Significância	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
CV (%)	15	22.6	14.2	2.5	6.9	

Quadro 3 - Efeito da estratégia de rega sobre a produção e suas componentes.

De um modo geral os valores mais elevados da produção da cultura e suas componentes (Quadro 3), bem como do peso de lenha de poda, foram observados sob RDC1, em condições de *stress* menos intenso, ainda que as análises de variância indiquem que não houve efeito significativo da estratégia de rega. O valor mais baixo de $\alpha = 0.0644$ foi obtido na análise dos valores do peso de 100 bagos o que sugere uma maior influência do *stress* hídrico sobre o tamanho do bago, que apresentou o menor valor em RDC3.

Modalidade	Teor de Sólidos Solúveis (° Brix)	Acidez Total (g.l ⁻¹) Antocianas Extratáveis (mg.dm ⁻³)		Antocianas Totais (mg.dm ⁻³)	Índice de Polifenois (TPI)	
RDC1	21.9	2.71	167.1	204.8	66.6	
RDC2	21.5	2.61	200.1	200.0	55.9	
RDC3	21.9	2.81	226.0	247.6	66.2	
Média	21.8	2.71	197.7	217.5	62.9	
Nível de Significância	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
CV (%)	1.2	4.3	15.9	13.9	11.1	

Quadro 4 - Efeito da estratégia de rega sobre a composição do fruto.

As análises de variância relativas à composição do fruto (Quadro 4) indicam que não houve efeito significativo das estratégias de rega observando-se, no entanto, uma concentração mais elevada de antocianas na modalidade RDC3.

Quadro 5 - Ef	eito da estratégia de rega	a sobre o teor de água do solo.

Di-	1. 4		ASW		FTSW				
Dia	Dia do Ano		RDC2	RDC3	RDC1	RDC2	RDC:		
1	66	21.6 с	10.1 c	29.6 b	0.357 с	0.168 с	0.487 b		
1	176		39.6 ab	27.5 b	0.583 ab	0.653 ab	0.453 b		
1	94	194		194 48.1 a	49.6 a	44.4 a 31.4 ab	0.793 a 0.480 be	0.817a 0.440 b	0.733 a 0.517 ab
2	257 Média		257 29.2 b	29.2 bc	26.8 b				
M			36.6	39.0	0.697	0.604	0.641		
	Modalidade		n.s. 0.0000			n.s. 0.0000			
Nível de	Data								
Significância	Modalidade x Data		0.0035			0.0036			
CV _{Modulidade} (%)			21.00			21.02			

Em cada coluna médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste da diferença mínima significativa ($\alpha=0.05$).

Na Quadro 5 apresentam-se os resultados das análises de variância relativas aos valores do teor de água no solo (ASW e FTSW). A estratégia de rega não influenciou significativamente o teor de água no solo, embora interfira com a distribuição desta variável ao longo do tempo (Figura 2). Observou-se uma resposta mais evidente à rega sob RDC1 e RDC2, com valores médios significativamente diferentes no período entre o pintor (dia 194) e a colheita (dia 257).

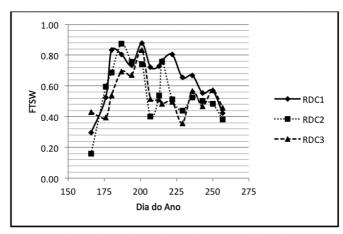


Figura 2 - Evolução da FTSW no ano de 2012.

Os resultados das análises de variância relativas à resposta da cultura mostram que a estratégia de rega teve um efeito significativo sobre as três variáveis estudadas, influenciando também no caso do potencial hídrico xilémico e da resistência estomática a sua distribuição ao longo do tempo (Quadro 6), ainda que a utilização do teste da diferença mínima significativa não o evidencie para as datas apresentadas. A análise mostra também que, em geral, o nível de *stress* conduziu a uma diferenciação na resposta da planta expressa através do potencial hídrico xilémico (Figura 3).

Quadro 6 - Efeito das estratégias de rega sobre a resposta da planta.

Die de			Ψ (MPa)			Resistência Estomática (s.cm ⁻¹)			Teor de Clorofila		
Dia do Ano		RDC1	RDC2	RDC3	RDC1	RDC2	RDC3	RDC1	RDC2	RDC3	
166 176 (180 para o Ψ) 194 257 Média		- 0.71 b - 1.11 a - 0.94 a - 1.00 a - 0.85	- 0.64 c - 1.11 ab - 0.94 b - 1.19 a - 0.95	- 0.81 b - 1.15 a - 1.14 a - 1.28 a - 1.03	0.67 ab	1.16 b	1.51 b	17.5	18.8	15.5 22.0 17.3 16.7	
					1.78 a 0.48 b 1.60 ab	2.08 a	3.64 a 0.47 b 0.58 b	18.9	18.3		
						0.75 b		19.7	17.7 17.5 16.7 ab		
						0.56 b		22.5			
						0.72		18.8 a			
	Modalidade		0.0381			0.0217			0.0221		
Nível de	Data		0.0000			0.0000			0.0001		
Significância	Modalidade x Data		0.0210			0.0000			0.1380		
CV _{Modalidade} (%) 12.73			82.21			13.51					

Em cada coluna médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste da diferença mínima significativa ($\alpha = 0.05$).

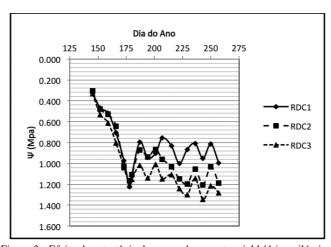


Figura 3 - Efeito da estratégia de rega sobre o potencial hídrico xilémico.

Os resultados mostram que o potencial hídrico xilémico pode constituir uma base para o controlo do nível de stress, em condições de rega deficitária, ainda que se considere necessário aferir a metodologia utilizada no cálculo da dotação a aplicar em cada rega. O teor de clorofila poderá ser, pela sua simplicidade, um método a considerar, cujo interesse se prevê avaliar através de um estudo mais pormenorizado dos dados. Os resultados sugerem também que, em condições ambientais semelhantes às observadas no ano de 2012, é possível aumentar significativamente e de forma sustentável a eficiência do uso da água.

AGRADECIMENTOS

Os autores manifestam o seu agradecimento ao Comendador Leonel Cameirinha e ao Dr. Filipe Cameirinha pela disponibilização do local e pelas condições proporcionadas para a realização do ensaio de campo e, ao Mestre Nuno Conceição (ISA/UTL) pela ajuda na instalação do campo experimental, ao Doutor José Silvestre (INIAV), à Doutora Maria Isabel Ferreira (ISA/UTL) e ao Doutor Carlos Arruda Pacheco (ISA/UTL) pelo apoio científico e pela cedência do dispositivo experimental instalado no local. À ATEVA agradecemos a cedência dos dados relativos à fenologia da vinha na fase inicial do ciclo cultural.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo-Opazo, C., Ortega-Farias, S. e Fuentes, S. (2010). Effects of grapevine (Vitis vinifera L.) water status on water consumption, vegetative growth and grape quality: an irrigation scheduling application to achieve regulated deficit irrigation. Agriculture Water Management 97: 956-964.
- Arruda Pacheco, C. e outros (2008). Relatório Final do Projecto Rega Deficitária em Vinha Critérios de Condução da Rega Compatíveis com a Qualidade da Produção. Lisboa.
- Baggiolini, M. (1952) Les stades repères dans le développement annuel de la vigne et leur utilisation pratique. Revue romande d'Agriculture, de Viticulture et d'Arboriculture 8, 4-6.
- Chaves, M., Zarrouk, O., Francisco, R., Costa, J., Santos, T., Regalado, A., Rodrigues, M. e Lopes, C. (2010). Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Annals of Botany* 105: 661–676.
- Cifre, J., Bota, J., Escalona, J., Medrano, H., Flexas, J. (2005). Physiological tools for irrigation scheduling in grapevine (*Vitis vinifera* L.). An open gate to improve water-use efficiency? *Agriculture, Ecosystems and Environment 106*: 159–170.

- Fanizza, G., Ricciardi, L. e Bagnulo, C. (1991). Leaf greenness measurements to evaluate water stressed genotypes in Vitis vinifera. Euphytica 55: 27-31.
- Fereres, E, e Soriano, M. (2007). Deficit irrigation for reducing agricultural water use. *Journal of Experimental Botany*, 58 (2): 147-159.
- Gomez K. A. e Gomez A. A. (1984). Statistical procedures for agricultural research, 2nd edition. An International Rice Research Institute Book. John Wiley & Sons. New York.
- Gurovich, L.; Vergara, M. (2005) Riego deficitario controlado: la clave para la expresión del terroir de vinos premium. Proceedings: Seminario Internacional de Manejo de Riego y Suelo en Vides para Vino y Mesa. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Santiago, Chile.
- Jones, H. (2004). Irrigation scheduling: advantages and pitfalls of plant-based methods. *Journal of Experimental Botany*, 55: 2427-2436.
- Ojeda, H. (2007). Rega qualitativa de precisão da vinha. *Revista Internet de Viticultura e Enologia*:1-11. www.infowine.com.
- Pilar, B., Sánchez-de-Miguel, P., Centeno, A., Junquera, P., Linares, R., Lissarrague, J. (2007). Water relations between leaf water potencial, photosynthesis and agronomic vine response as a tool for establishing thresholds in irrigation scheduling. Scientia Horticulturae 114: 151-158.
- Reis, R. M. M. e Gonçalves, M. Z. (1987). O clima de Portugal. Fascículo XXXIV. Caracterização climática da região agrícola do Alentejo. Instituto Nacional de Meteorologia e Geofisica. Lisboa
- Richardson, A., Duigan, S. e Berlyn, G. (2002). An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar clorophyll content. *New Phytologist 153*: 185-194.
- Williams, L. e Araujo, F. (2002). Correlation among predawn leaf, midday leaf, and midday stem water potencial and their correlations with other measures of soil and plant water status in Vitis vinifera, J. Amer. Soc. Hort. Sci. 127 (3): 448-454.

TÉCNICAS CULTURAIS IMPORTANTES PARA ORIENTAR A PRODUTIVIDADE E A QUALIDADE DA VITIVINICULTURA NO ALENTEJO

João M. BARROSO; Luis POMBEIRO; jmmb@uevora.pt

ICAAM – Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Universidade de Évora, Ap. 94, 7002-554 Évora, Portugal.

RESUMO:

Nas condições climáticas do Alentejo, a gestão da água ao longo do ciclo da videira, associada às características particulares do solo em cada parcela de vinha, constitui ferramenta essencial para orientar a produtividade das plantas e a qualidade das uvas. Nesta perspectiva, outras técnicas culturais que não simplesmente a rega, devem merecer atenção, pois podem contribuir para controlar a utilização da água pela videira em momentos decisivos do seu ciclo, e ajudar na orientação que se pretende para a cultura. Num ensaio efectuado na casta 'Trincadeira' em Évora, onde vários níveis de rega foram utilizados, associados ao enrelvamento entre-linhas e controlo da carga por planta, vem sendo estudado a importância destas diferentes técnicas e suas interações, no controlo da utilização de água pela planta e sua importância no comportamento fisiológico e agronómico da videira. Reunindo observações desde 2003 até 2010 é possível concluir da importância que a precipitação anual tem para o comportamento da planta, e da necessidade em alterar a disponibilidade hídrica no solo em diferentes fases do ciclo da mesma. A utilização do enrelvamento surge como uma interessante técnica, que conjugada com a prática da rega deficitária, poderá ajudar a regularizar e controlar o consumo de água pela planta e consequente comportamento produtivo.

Palavras chave: Vitis vinífera, rega, enrelvamento, bago, Trincadeira

1 - INTRODUÇÃO

A introdução da rega na vinha, graças à evolução e banalização da tecnologia de rega localizada do tipo gota-a-gota veio revolucionar o sector vitivinícola de tal forma que muitos dos conceitos clássicos de "terroir" e condicionamento edafo-climatico para a cultura estão cada vez mais a ser colocados em causa. De facto o impacto da rega na cultura da videira é directamente proporcional à enorme influencia que a disponibilidade hídrica tem na fisiologia desta planta, mas a excessiva polémica ainda existente em algumas regiões com a utilização da rega na vinha, não se compreende, se considerarmos

que objectivamente a rega não é a única fonte de água disponível para a cultura da videira, mesmo nas regiões mais tradicionais. O foco dos estudos está assim hoje mais ligado à influencia da disponibilidade hídrica do que propriamente à utilização da rega, sendo esta apenas uma das vias de alterar aquela e nem sempre a mais importante. Outro aspecto cada vez mais sublinhado, é o estudo da disponibilidade hídrica em cada um dos períodos críticos do ciclo vegetativo e reprodutivo da videira, e não a disponibilidade total anual, pois que esta planta tem manifestamente tendência para um "consumo de luxo", quando a disponibilidade dos factores é elevada, e essa ocorrência nem sempre está correlacionada com a média da disponibilidade anual.

Na viticultura de sequeiro, grande parte das condições que estavam na origem dos conhecidos "Terroirs" assentavam precisamente nos factores de solo relacionados com a sua profundidade e potencial de aprofundamento radicular e armazenamento útil de agua para a planta por um lado, e por outro os ligados ao microclima das regiões que determinam as dinâmicas fonológicas e igualmente o consumo de agua pela planta. Com a introdução da rega essas condições particulares de cada região, e no limite de cada parcela, devem fazer parte dos pressupostos ao lado de todas as técnicas culturais que podem modificar a dinâmica do consumo de água. Discutir a rega independente das condições de solo e clima, bem como de outras técnicas determinantes da disponibilidade hídrica em cada momento do ciclo não faz pois muito sentido hoje.

Nesta matéria cada região vitícola tem pois as suas características edafo-climáticas específicas que devem ser consideradas, e depois cada parcela ainda tem outro nível de condicionalismo particular a incluir. No que ao Alentejo diz respeito podemos considerar três características climáticas verdadeiramente relevantes: - a concentração das precipitações nos meses de Inverno, Outubro a Março, quando a videira não tem consumo de agua; - a grande irregularidade interanual dessas precipitações, que variam facilmente do simples para o dobro, típica do clima mediterrânico; - e uma evolução da temperatura media durante a Primavera, que tem uma subida abrupta a partir de final de Maio, mas sobretudo em Junho, quando o bago da videira se encontra na sua primeira fase de crescimento herbáceo, que funciona como um acelerador fisiológico da planta, catalisando o processo de extracção de agua do solo e restantes fenómenos a ocorrer nessa altura.

No que ao solo diz respeito, a característica da região é a grande irregularidade entre parcelas, o que acentua ainda mais a importância da especificidade de cada uma delas. A interacção das condições climáticas regionais com as condições particulares de cada vinha é a verdadeira base de trabalho que nunca pode ser esquecida, quando se procura estabelecer um objectivo em termos de utilização de água pela videira. Colocado assim o problema é fácil de concluir que as questões a resolver no âmbito do sistema e técnicas culturais, passam não apenas por regar em certos momentos do ciclo, mas por tentar reduzir o consumo da água naturalmente existente no solo em outros momentos. E este ultimo problema é bem mais difícil de resolver que o primeiro.

Se em regiões como na Austrália por exemplo a produção está em grande parte dependente da rega (Dry et al 2001), e portanto a sua gestão pode assumir-se como a chave para controlar o consumo de agua pela planta, no Alentejo tal não acontece, pois grande parte da disponibilidade hídrica está na reserva do solo criada durante o Inverno, e isso varia muito de solo para solo, e de ano para ano. Em geral no Alentejo existe um problema de falta de água após o Pintor e durante a maturação do bago, e um excesso de consumo na fase entre floração e Pintor. Este excesso é precisamente catalisado pela subida da temperatura media nesse período, e tem duas consequências negativas: uma ao nível do esgotamento das reservas de solo que seriam importantes para a fase seguinte de maturação do bago, e outra porque induz crescimentos vegetativos e de engrossamento do bago considerados negativos para os objectivos de qualidade da produção vitivinícola.

O enrelvamento surge assim entre outras técnicas culturais, como uma importante via de condicionar o consumo de água pela videira, pela competição que o tapete de plantas herbáceas promove à lenhosa. O controlo da utilização de água durante o crescimento herbáceo do bago, pode ainda para além de limitar o potencial tamanho final do bago, influenciar a biossintese de compostos fenólicos, quer do ponto de vista quantitativo quer qualitativo (Ojeda et al, 2002). A disponibilidade hídrica neste período vai ainda influenciar a componente sementes no bago, e essa é outra importante via de condicionar a acumulação de alguns compostos importantes para a qualidade.

No entanto também existem referências que alertam para a insustentabilidade desta pratica em regiões mais secas, pelo consumo extra de água que o enrelvamento provoca. Shultz e Lohnertz (2002) referem o abandono desta prática em algumas regiões da Alemanha e Van Huyssteen e Weber (1980) na África do Sul, o excessivo consumo de água que pode ser fatal em algumas castas. Em geral o enrelvamento pode ser considerado uma importante ferramenta de controlo de vigor e crescimento da videira, quando se pode dispor de um sistema de rega instalado que funcione assim que necessário. Enrelvamento e rega podem assim ser consideradas duas importantes práticas culturais que ajudam a controlar os excessos na fisiologia da videira, mantendo o seu consumo de água dentro dos intervalos considerados óptimos para a produção de qualidade.

2 – MATERIAL E MÉTODOS

Os resultados apresentados dizem respeito a um ensaio instalado na Herdade de Pinheiros (Fundação Eugénio de Almeida) em Évora. O talhão da casta 'Trincadeira' foi plantado em 1998, enxertado em R99, com um compasso de 2,5 x 1,2 m e conduzido em cordão Royat bilateral. A vegetação é conduzida em plano simples ascendente com recurso a dois arames móveis e efectuada uma desponta a 1,70 do solo. O sistema de poda contemplou dois níveis de carga, C1 com 6 talões a dois gomos e C2 com 8 talões a 2 gomos cada, sendo efectuada após a floração uma regularização do número de cachos entre cargas, de forma a C1 ficar com 8/9 cachos e C2 com 14/15 cachos.Os tratamentos com enrelvamento foram instalados em 2002.

O solo do ensaio é do tipo Pmg de textura arenosa-franca com um perfil utilizável de 100 cm e 56 mm de armazenamento potencial de água. Na fig. 1 apresentam-se os valores da precipitação anual para a região na última década, podendo destacar-se 3 grupos de anos; 2003, 2005 e 2012 com precipitações muito baixas, da ordem de 300 mm, 2010 e 2011 com valores anormalmente elevados –acima de 800 mm e os restantes anos com valores intermédios entre 500 e 600 mm. O sistema de rega é do tipo gota a gota com gotejadores à superfície de 3,7 l/h autocompensantes. A rega foi efectuada durante a noite de forma contínua com dotações de 18 mm uma vez por semana, sendo a modalidade de rega –R1 iniciada com o potencial de base -0,4 MPa, que em 2010 correspondeu

a 22 de Julho, e a modalidade R2 iniciada mais cedo ainda antes do pintor com o potencial de base -0,2 MPa. Em ambas as modalidades a rega prolongou-se até final de Agosto, 2 semanas antes da vindima.

A observação efectuada sobre varias zonas do ensaio permitiu identificar a seguinte composição floristica do enrelvamento natural obtido até à data: *Juncus Sufonins-* 54%; *Alface Brava Menor -*27%; *Bromus Bordeaceus -*3%; *Silene -*3%; *Rumex Obtubifolins -*2.5%; *Trifolium Pratense-*7%; *Trifolium Fragiterum L-* 2%; *Hordeum Murinum L. -*1%; *Medicago Sativa -* 0.5%. Na Primavera, durante os meses de Abril e Maio até 15 de Junho foram efectuados apenas 3 cortes da relva natural, que permitiu controlar o seu crescimento. Nos tratamentos com mobilização, esta foi efectuada apenas superficialmente com recurso a vibrocultor.

O ensaio é composto por um factorial split-splot em 4 talhões-repetição (quadro 1). A produção foi medida individualmente no total das plantas do ensaio, no total de 15 por unidade experimental, bem como o número de cachos e respectivo peso médio. A vindima foi realizada no mesmo dia em todos os talhões, e deu a origem a micro vinificações, nas quais se determinaram os diversos parâmetros qualitativos. Para o cálculo do peso médio do bago foram recolhidas amostras de 200 bagos em cada unidade experimental de forma aleatória entre vários cachos vindimados. Em 2010 o estudo sobre o engrossamento dos bagos incluiu uma divisão de todos os bagos da amostra em três classes de acordo com a sua dimensão: - pequenos, médios e grandes, sendo ainda determinado o peso das componentes grainhas, película e polpa. O vigor das cepas foi avaliado pelo peso da lenha de poda (expressão vegetativa), enquanto o vigor acumulado foi medido através do perímetro do tronco acima do ponto de enxertia.

As medições do potencial hídrico foliar de base foram realizadas com uma câmara de pressão tipo "Scholander" antes do nascer do sol em 3 folhas da base de 3 plantas por unidade experimental. A análise estatística dos dados incluiu para além da análise de variância dos diferentes tratamentos dos ensaios e respectivas diferenças significativas, a utilização do teste LSD para separação de médias com intervalos a 95%.

Manutenção do solo	Rega	Carga
Mobilização	Sequeiro	C1 - 12 gomos /planta
Enrelvamento	R1 (Julho, Agosto)	C2 - 16 gomos /planta
	R2(Junho, Julho, Agosto)	

Quadro 1 – Dispositivo experimental do ensaio na Herdade de Pinheiros (FEA – Evora)

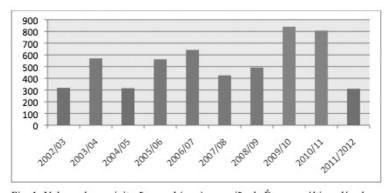


Fig. 1- Valores da precipitação anual (mm) na região de Évora na última década

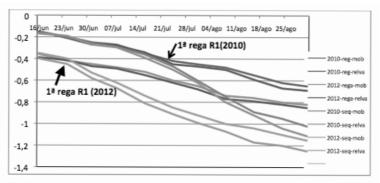


Fig. 2 - Potencial foliar de base (MPa) na 'Trincadeira' após a floração em 2010 e 2012

3- RESULTADOS DE DISCUSSÃO

Analisando os resultados de produção deste ensaio a partir de 2003 (fig. 9 e fig. 4), podemos de imediato constatar que contrariamente ao enrelvamento, que induz em todos os anos um efeito negativo sobre a produção, a prática da rega tem consequências muito diferentes de ano para ano. Se em 2003 e 2005 as diferencas na produção por planta são altamente significativas, já o mesmo não acontece nos anos de 2004, 2007 e 2010. Esta diferença está em sintonia com a diferente pluviosidade observada nesses anos. Com efeito 2003 e 2005 foram anos cuja precipitação acumulada desde Outubro não ultrapassou os 300 mm (fig.1), deixando reservas muito baixas no solo, e assim o maior engrossamento do bago proporcionado pela rega determinou as referidas diferenças na produção por planta. Nos anos de maior pluviosidade e mesmo considerando a baixa capacidade de armazenamento do solo em causa, a pratica da rega deficitária realizada apenas depois do pintor (em geral de meados de Julho a final de Agosto), não conduziu a diferenças muito evidentes. O facto do enrelvamento em 2003 não ter induzido diferenças deve-se ao facto deste tratamento só ter sido introduzido precisamente no Outono de 2002, e portanto a fraca instalação das herbáceas num Inverno seco não determinou um significativo impacto na videira.

A partir de 2007 para além do tratamento com rega deficitário iniciado apenas após o Pintor, foi introduzido um segundo tratamento de rega mais cedo –R2, que já teve influência no crescimento herbáceo do bago. Observamos assim nos resultados da produção de 2007 e 2010, uma clara influencia positiva deste tipo de rega mais precoce, na produção das plantas, o que se explica pelo maior crescimento do bago na sua fase herbácea. No entanto, em 2010 quando analisamos a interacção dos tratamentos de rega e enrelvamento (fig.4), é visível o facto de neste tipo de manutenção do solo, quer a rega R1 quer a R2 se terem mostrado influentes na produção. Com enrelvamento a produtividade das plantas sofre uma quebra significativa, mesmo em anos de forte pluviosidade nas condições do Alentejo, só sendo atenuada com a utilização da rega. A menor expressão vegetativa das plantas sujeitas a este tipo de manutenção do solo, está bem evidente na fig.8 onde se apresentam as médias da madeira de poda de 4 anos nos vários tratamentos de rega e enrelvamento. O enrelvamento ao competir também nutricionalmente

com a videira, reduz em muito os crescimentos de Primavera da planta, sendo isso mais evidente quando se utiliza o sequeiro pleno. Ainda assim os valores apresentados relativos ao perímetro do tronco das plantas em 2008, e que traduzem o efeito acumulado dos tratamentos em estudo na capacidade instalada da planta, não traduzem diferenças significativas. A explicação para este resultado aparentemente contraditório, poderá estar no facto de muita da resposta vegetativa da videira em resultado das excepcionais condições ao crescimento em Junho, quando a agua disponível e temperatura elevada se conjugam, não contribuírem muito para a acumulação de matéria seca da videira, porque muito rapidamente essas condições desaparecem e o grande aparelho foliar desenvolvido não tem possibilidade de continuar a funcionar. O saldo energético em termos de matéria seca para a planta não é pois tão evidente quanto a expressão vegetativa parece mostrar.

O impacto provocado na produção unitária pela maior disponibilidade hídrica para a planta, vem em geral de duas componentes; acréscimo de fertilidade potencial dos gomos e aumento do engrossamento do bago, sendo este o resultado da componente crescimento herbáceo, antes do pintor e do aumento de peso durante a maturação. Na casta 'Trincadeira' temos constatado em trabalhos anteriores que o impacto na fertilidade é muito reduzido, sendo as principais diferenças atribuídas à diferença entre o peso médio do bago. Nos anos muito secos, como 2003 e 2005, a primeira fase de crescimento do bago é de facto severamente afectada, observando-se nesses anos as maiores diferenças entre plantas regadas e em sequeiro, devido à importância que a rega mesmo deficitária tem durante a maturação para a acumulação de água e acucares no bago. Contrariamente, nos anos mais pluviosos e com mobilização, essas diferencas são pouco evidentes, porque a água de rega aplicada durante a maturação, apenas vai contribuir qualitativamente para o funcionamento das folhas durante esse período final. No entanto como se constata no gráfico da fig.5 obtido com os resultados de 2010, a rega é decisiva para a dimensão do bago quando se trata de plantas sujeitas a enrelyamento. A importância de dispor de rega em vinhas com enrelvamento tem sido uma referência constante nos ensaios realizados em muitas regiões vitícolas. O esgotamento precoce da reserva de água no solo é a razão aparentemente mais evidente para estes resultados, havendo ainda aqui que considerar as diferentes capacidades de armazenamento útil do solo que podemos ter em diferentes parcelas de vinha.

A disponibilidade de água durante a primeira fase de crescimento do bago é o factor mais importante no crescimento do bago e por conseguinte na produção unitária. Nos anos de major pluviosidade e em solos com boa capacidade de armazenamento, o enrelvamento das entre-linhas mostra ser uma eficiente técnica de controlar esse crescimento. devido à competição do tapete de herbáceas sobre a vinha. Essa competição vai para além da competição pela água, traduzindo-se num menor vigor dos crescimentos da planta. Mesmo com a rega iniciada mais cedo (R2) podemos constatar como o enrelvamento trava o engrossamento do bago (fig. 7-b). Qualquer que seja o regime de rega, este tipo de manutenção do solo parece ter sempre um efeito inibidor sobre o peso médio do bago. No entanto este efeito do enrelvamento sobre o crescimento do bago pode ser mascarado pela diferença de bagos existente por cacho em resultado de alterações na fertilidade provocado pelo mesmo enrelvamento. Na Fig. 5-b pode-se observar de facto uma nítida redução do numero de bagos por cacho nos tratamentos de sequeiro e rega precoce (R2) quando sujeitos a enrelvamento. Essa diferença terá de ser considerada quando comparamos o peso médio do bago desses mesmos tratamentos, aumentando o seu impacto quando se trata do sequeiro e diluindo o mesmo quando se trata da rega precoce. É no entanto bem evidente a importância da rega precoce (R2) no crescimento do bago, em particular na maior carga (C2) onde o número de bagos por cacho é menor. Nem sempre mais cachos podem conduzir a mais bagos por planta, e o possível impacto negativo do enrelvamento na fertilidade dos gomos, pela via do menor vigor proporcionado às plantas, é um aspecto a ter em consideração, porque se pode inverter o resultado pretendido com esta técnica de manutenção do solo ao nível do engrossamento do bago. Poderiamos pois dizer que o limite a respeitar na redução de vigor das plantas através do enrelvamento deve ser aquele que não ponha em causa a normal diferenciação floral dos gomos, quer ao nível do número de inflorescências quer ao nível do número de bagos por cacho.

A carga por planta e respectivo aumento do número de cachos, pode constituir uma outra técnica de alterar quer a produção por planta quer o próprio crescimento do bago. Os resultados do ano de 2010 indicam que ao nível do peso médio do bago, apenas nas plantas sujeitas a mobilização, esse travão da carga sobre o peso médio do bago parece existir, ainda que sem significado do ponto de vista estatístico. Nas modalidades de

enrelvamento as diferenças ainda foram menos evidentes. Desta forma o impacto dos dois níveis de carga por planta, bem diferentes, acabou por ser significativo ao nível da produção obtida por planta (fig 4).

A importância da dimensão do bago para a qualidade final da produção é um assunto estudado há muito, mas nem sempre o pressuposto que a maior relação película/polpa dos bagos pequenos e respectiva maior concentração dos mostos obtidos influencia positivamente a qualidade, encontra explicação nos resultados finais obtidos sobre os respectivos parâmetros qualitativos medidos. Relativamente a este assunto Matthews e Nuzzo (2007) sublinham que as praticas culturais são mais importantes na qualidade da produção, que aquela simples relação quantitativa, deixando pistas sobre a importância que algumas técnicas poderão exercer sobre a espessura da película e mesmo sobre a sua concentração em polifenois e antocianas por exemplo. Uma outra questão importante quando se estuda a dimensão do bago na videira, tem a ver com a dificuldade em obter amostras representativas do universo de bagos bastante heterogéneo de um cacho, e esta pode ser também uma das razões da grande disparidade de resultados em geral obtidos nos ensaios.

Ao observar os resultados de 2010 neste ensaio de Trincadeira, podemos constatar que embora os diferentes níveis de rega tenham induzido diferentes níveis de dimensão média do bago na amostra recolhida, a relação de película/polpa medida sobre os bagos dessas amostras não foi significativamente diferente (Fig. 7-A a 7-B). Ou seja como refere Matthews e Nuzzo (2007) o bago não cresce apenas como se de um balão a encher se tratasse, mas sim através de um complexo processo em que a matéria seca, incluindo todos os constituintes das películas, aumenta a par do peso fresco total do bago. Separando os bagos do cacho em 3 classes de dimensão, pequenos, médios e grandes, com vista à observação mais em detalhe do impacto dos tratamentos em cada um deles, (Fig. 6-A e B) pode-se observar um maior impacto da rega e da mobilização sobre o aumento de dimensão nos bagos grandes que nos médios e pequenos. Este facto tem a ver com o menor número de grainhas dos bagos pequenos, que travam o seu potencial de crescimento. Existe de facto uma interessante interacção a estudar entre a forma como decorre a floração e o vingamento dos bagos e correspondente nº médio de grainhas por bago e

o impacto que a futura disponibilidade de água durante o seu crescimento tem quer durante o crescimento herbáceo quer durante a maturação. No entanto o facto de não se ter observado diferença na relação película/polpa dos bagos entre os níveis de rega por exemplo, não impediu que ao nível das antocianas e polifenois desse mesmo ano de 2010, algumas diferenças apareçam. Elas são mais evidentes no total de polifenois medido, onde curiosamente é a rega utilizada só durante a maturação (R1) a mostrar valores mais altos quer em mobilização quer em enrelvamento.

4 – CONCLUSÃO

A disponibilidade hídrica no solo durante o ciclo da videira é um factor que influencia significativamente quer a componente produtiva quer a componente qualitativa da produção. A sua importância não pode ser reduzida no entanto à prática ou não da rega, sobretudo nas condições do Alentejo onde a irregularidade do clima e dos solos é grande. Utilizar o controlo hídrico em favor de maior eficiência fisiológica da videira, implica a utilização de várias práticas culturais, onde o enrelvamento pode ser uma importante componente. A moderação na utilização da água durante o período vingamento – pintor é essencial para se obterem os melhores resultados, mas esse objectivo é difícil de obter em anos de forte precipitação e em solos de maior capacidade de armazenamento. A dimensão do bago sendo um parâmetro importante a considerar, não esgota toda a explicação para as diferenças de alguns parâmetros de qualidade, em parte pela interacção que tem com outros fenómenos como o nº de grainhas por bago, e pela diferente contribuição de cada uma das fases de crescimento para o seu tamanho final.

5 - REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- DRY, P.R.; LOVEYS, B.R.: MCCARTHY, M.G.; STOLL, M. (2001) –Strategic irrigation management in Australian vineyards, J. Int. Sci. Vigne Vin, n°3, 129-139.
- MATTHEWS, M.A., NUZZO, V. (2007) Berry size and yield paradigms on grapes and wines quality, Acta HORT. 754 ISHS, 423-433.
- OJEDA, H.; ANDARY, C.; KRAEVA, E.; CARBONNEAU, A.; DELOIRE, A. (2002) -Influence of pré- and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of Vitis vinífera cv Siraz. Am. J. Enol. Vit, 53, 261-267.
- SCHULTZ, H.R.; LOHNERTZ, O. (2002) Cover crop use in Germany and possible effects on wine quality. Mondiaviti Bordeaux, France
- VAN HUYSSTEEN, L.; WEBER, H.W. (1980) The effect of selected minimum and conventional tillage practices in vineyard cultivation on vine performance. S. Afr. J. Enol. Vitic. 1(2):77-83.

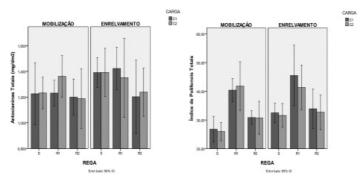


Fig. 3 - Antocianas totais (mg/dm3) e índice de polifenois em 2010 nas diferentes modalidades de rega, manutenção do solo e carga. As barras representam ± o intervalo de confiança para a média.

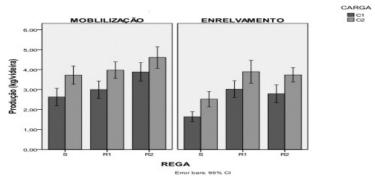


Fig. 4 -Produção em (kg/videira) em 2010 nos tratamentos de rega, manutenção do solo e carga.

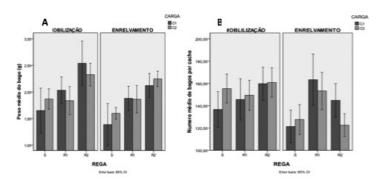


Fig 5 – Peso médio do bago (g) -A e número médio de bagos por cacho –B, nos tratamentos de rega, manutenção do solo e carga em 2010.

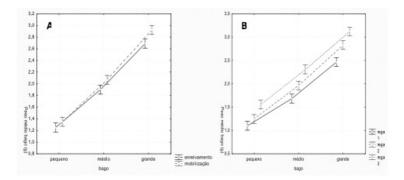


Fig. 6 - Peso médio do bago à vindima por classes de tamanho

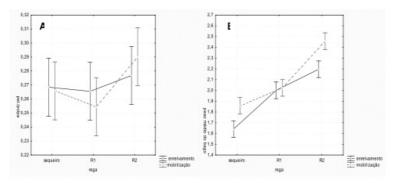


Fig 7 – Relação película/polpa do bago à vindima (A) e peso médio do bago por cacho (B)

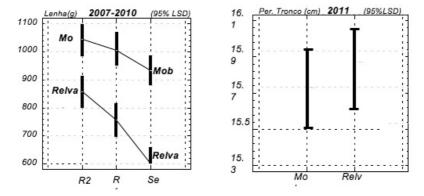


Fig 8 – Vigor das plantas expresso pela media de 3 anos da lenha de poda à esquerda, e pelo engrossamento acumulado do tronco em 2010 à direita.

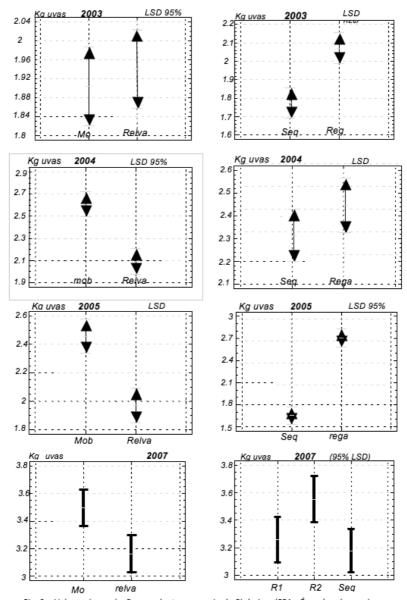


Fig. 9 – Valores da produção por planta no ensaio de Pinheiros (FEA - Évora) ao longo dos anos 2003-07, nos tratamentos de rega e manutenção do solo.

MEJORA DE LAS CUALIDADES ORGANOLÉPTICAS EN LA VARIEDAD RED GLOBE MEDIANTE TÉCNICAS DE CULTIVO

María José SERRANO⁽¹⁾; José Antonio PÉREZ⁽¹⁾; Rocío GUTIÉRREZ⁽¹⁾; Enrique CANSECO⁽¹⁾

RESUMEN

La uva de mesa es un cultivo más exigente y competitivo en cuanto al aspecto visual de la uva, el consumidor gusta de un producto que sea apetecible, con adecuadas cualidades físicas y químicas. Para mejorar la calidad del fruto, el viticultor se ve obligado a realizar operaciones manuales en verde y aplicar reguladores de crecimiento.

La variedad Red Globe es rosada con semilla y gran tamaño de baya. Presenta buenas características organolépticas, pero debido principalmente a su tamaño de racimo y baya no alcanza la coloración homogénea deseada. En este trabajo se presenta la mejora cualitativa que supone el empleo de potenciadores del color a base de fitoreguladores como ethrel y técnicas de cultivo como el aclareo sobre las cualidades organolépticas en esta variedad.

PALABRAS-LLAVE: Red Globe, ethrel, aclareo, textura, color.

1- INTRODUCCIÓN

Uno de los principales atributos exigidos a las variedades tintas de uva de mesa es el adecuado desarrollo del color sobre el hollejo de la baya. En muchas ocasiones no se consigue alcanzar la intensidad de color óptima depreciándose el producto en el mercado

⁽¹⁾ IFAPA Centro Rancho de la Merced. C.A.P.M.A Junta de Andalucia. Apartado 589. 11471 Jerez de la Frontera. España. Tlf: 956 03 46 00. Fax: 956 03 46 10.

e-mail: mariaj.serrano.albarran@juntadeandalucia.es

Las causas de este problema son multifactoriales, temperatura ambiental, características propias de la variedad, intensidad lumínica, exceso de carga productiva, exceso de desarrollo foliar, etc. Además, en zonas cálidas se acentúa este problema, ya que es común que el contenido de sólidos solubles se alcance antes que el color deseado. Cuando las bayas alcanzan cierto contenido en azúcar, la síntesis y acumulación de antocianinas se bloquean (SPAYD et al., 2002).

Algunas técnicas viables para paliar este defecto son la utilización de reguladores de crecimiento como el ethrel, aclareo de bayas, anillado y aportación de nutrientes, entre otras.

El ethrel es una sustancia que libera etileno, acelerando el desarrollo del color de las bayas (CACERES, E., 1996), pero el tamaño de las bayas, el azúcar y el ácido, en general, no cambian según algunos autores. No obstante, se debe tener en cuenta que dosis mayores que las indicadas producen ablandamiento en los granos y manchado del raquis. Y por otro lado, el exceso de carga productiva en una planta, induce de inmediato una mayor demanda de nutrientes, azúcares, agua, etc, que provoca un desequilibrio en la relación hoja-fruto y da lugar a bayas imperfectamente coloreadas. La técnica de aclareo se presenta como un ajuste de la carga productiva que puede inducir una mejor coloración de la baya.

El uso de estas técnicas puede modificar otras cualidades de la baya, además del color, como el tamaño, la forma o la textura. El grado de firmeza o textura de la baya es un atributo importante de la uva de mesa y sobre todo para la exportación. Diferentes investigaciones han determinado el desarrollo de diversos métodos de medición de textura como el método de punción de la baya, el cual implica la penetración de una sonda al interior de esta (SATO et al., 1997). La fuerza al momento de ruptura sería un índice de la firmeza de la película (BOURNE, 1980), mientras que la pendiente al punto de ruptura se considera un índice de la consistencia de la pulpa y de la crocancia de las bayas (VARGAS et al., 2001).

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos con técnicas de cultivo como la aplicación de reguladores de crecimiento y el aclareo de bayas para mejorar las cualidades organolépticas en la uva de mesa Red Globe.

2- MATERIAL Y MÉTODOS

2.1- Características del ensayo.

El trabajo se ha realizado sobre la variedad Red Globe, variedad tinta pirena (con semillas) de racimos grandes y sueltos y bayas de gran tamaño. La parcela de estudio se encuentra en una zona de clima cálido, con precipitación media anual de 600 mm y temperatura media anual de 17,5 °C. Las cepas están dispuestas a un marco de plantación de 3 x 3 m y conducidas en parral protegido bajo malla y el ensayo se ha dispuesto en bloques al azar con tres repeticiones. El estudio se ha realizado durante la campaña 2012 y el tratamiento estadístico se ha llevado a cabo con el programa Statistix 9.0.

2.2- Parámetros controlados.

Se han determinado parámetros cualitativos y cuantitativos sobre las técnicas de cultivo estudiadas

2.2.1- Tamaño de la bava

Se han determinado parámetros de la baya como longitud y diámetro, mediante calibrador digital y peso de la baya mediante balanza digital. Para cada una de las técnicas se han correlacionado estos datos con la variación semanal y la variación acumulada de estos valores

2.2.2- Análisis del color

Determinado mediante colorímetro Chroma Meter CR-400 de Konica Minolta y los datos se han procesado con el programa SpectraMagicTMNX. Este método representa la cromaticidad por el sistema de coordenadas según McGuire, donde "a" es la abscisa, "b" la ordenada y "L" representa la luminosidad o claridad. Los índices de color fueron determinados en la piel de la baya.

2.2.3- Estudio de textura

Para determinar la textura de la baya se ha utilizado un texturómetro marca TA.XT.plus Stable Micro Systems, equipado con una sonda cilíndrica de acero de 2 mm de diámetro que penetra la baya intacta a 6 mm de profundidad. Se han realizado mediciones sobre

15 bayas durante las cuatro semanas anteriores a la vendimia, obteniendo curvas fuerzatiempo, dureza y fracturabilidad. Los datos se han procesado con el programa Textura Exponent 32 de Stable Micro Systems

2.2.4- Contenido de azúcares

El contenido de azúcares se ha realizado sobre bayas durante el periodo de maduración y mediante un refractómetro digital marca WM-7 ATAGO. La concentración de azúcares se ha tomado en grados Baumé.

3- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1- Tamaño de la baya

En el tamaño de la baya se ha determinado la longitud, el diámetro y el peso de la baya para las tres técnicas estudiadas y semanalmente durante la maduración. En el Cuadro 1 se presentan los resultados obtenidos en el momento de la vendimia.

Cuadro 1. Tamaño de la baya

	Ethrel	Aclareo	Testigo	
Longitud	21,527	21,399	20,354	n.s.
Diámetro	20,865	20,484	19,947	n.s.
Peso	6,161	6,000	5,356	n.s.

Aunque las técnicas de aclareo y ethrel incrementan ligeramente la baya frente al testigo, estadísticamente no es significativo, pero sí se detecta una mayor uniformidad en el tamaño en estas técnicas.

3.2- Análisis del color.

El análisis del color indica una certeza del grado de madurez que tiene la uva en base a las diferencias de color, según los factores "L" (luminosidad), "a" de verde a rojo y "b" de azul a amarillo. En general, los valores de "L" mostraron que las bayas analizadas presentaban una tendencia a la opacidad, el factor "a" mostró una tendencia hacia el rojo y el factor "b" una tendencia hacia los azules. De los resultados se dedujo una mayor

intensidad colorante en las bayas procedentes de la aplicación de ethrel, seguidas de la técnica del aclareo y menor intensidad, más rosáceas, las bayas procedentes del testigo, como se observa en la Figura 1.



Figura 1. Color de la baya.

De estos valores (Figura 1), deducimos que la aplicación de ethrel al comienzo del envero es una técnica viable para mejorar la intensidad de color en las bayas de la variedad Red Globe.

3.3- Estudio de textura.

En el estudio de la textura de la baya se observa como va disminuyendo la fuerza necesaria para conseguir su ruptura mediante la sonda durante la maduración. La modalidad ethrel es la que presenta valores más altos, indicándonos esto que tanto el testigo como el aclareo alcanzan en primer lugar los valores óptimos de maduración.

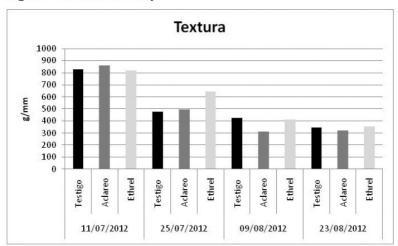


Figura 2. Firmeza de la baya

La aplicación de ethrel sobre la variedad Red Globe ha favorecido la intensidad colorante pero no ha supuesto una aceleración de la maduración de la baya.

3.4- Contenido de azúcares.

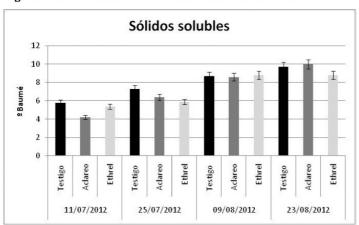


Figura 3. Contenido en sólidos solubles durante la maduración.

Durante la maduración se observa un incremento ascendente del contenido en sólidos solubles con diferencias entre las técnicas. La técnica de aclareo supone una mayor concentración de azúcares frente a la aplicación de ethrel, pero no significativa frente al testigo.

4- CONCLUSIONES

Del trabajo realizado sobre la variedad Red Globe se deduce que la técnica del aclareo ha supuesto una mejora cualitativa de las bayas, en cuanto a su ligero aumento de tamaño y una mayor uniformidad entre éstas, consiguiéndose además un ligero aumento en la intensidad en su color y su concentración de sólidos solubles. Y la aplicación de ethrel ha incrementado notablemente su color y uniformidad de éste, no suponiendo esto una aceleración de la maduración, ya que no se ha incrementado su contenido en sólidos solubles ni se ha degradado su firmeza, así como tampoco ha supuesto un incremento del tamaño de las bayas.

5- AGRADECIMIENTO

Los resultados presentados han sido obtenidos en el marco del proyecto Transforma Vid y vino del Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA), cofinanciado al 80% por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional, dentro del Programa Operativo FEDER de Andalucía 2007-2013.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOURNE, M. 1980. Textura evaluation of horticultural crops. HortScience 15(1): 7-13.

- CACERES, M. 1996. Uva de mesa. Cultivares aptas y tecnología de producción. E.E.A. San Juan, Centro Regional Cuyo. Argentina. 81 pp.
- SATO, A., YAMANE, H., HIRAKAWA, N., OTOBE, K. and YAMADA, M. 1997. Varietal differences in the textura of grape berries measured by penetration tests. Vitis 36(1): 7-10.
- SPAYD, S.E.; TARARA, J.M. MEE, D.L.; FERGUSON, J.C. 2002. Separation of sunlight and temperatura effects on the composition of Vitis vinifera cv. Merlot berries. Am. J. Enol. Vitic. 53, 171-182.
- VARGAS, A.; PEREZ, J.; SOFFOLI, J.P.; PEREZ, A. 2001. Comparación de variables de textura en la medición de firmeza de bayas de uva Thompson seedless. Cien. Inv. Agr. 28 (1) 37-42.

RELAÇÕES ENTRE ÍNDICES BIOCLIMÁTICOS E COMPOSIÇÃO DA UVA À VINDIMA: COMPARAÇÃO ENTRE ÍNDICES CLÁSSICOS E NOVOS ÍNDICES

EGIPTO¹ Ricardo; LOPES¹, Carlos M.; PEDROSO², Vanda; BRAGA³, Ricardo; NETO⁴, Miguel & PINTO¹, Pedro A.

RESUMO

Com o objectivo de avaliar as relações entre índices bioclimáticos (IB) e a composição da uva à vindima analisou-se uma série de dados da casta Touriga Nacional colhidos ao longo de 47 anos (1963 a 2010) no Centro de Estudos Vitivinícolas do Dão, em Nelas. A análise da evolução dos IB clássicos baseados na temperatura (Temperatura média da estação crescimento, - GST -, Índice de Winkler - GDD -, Graus Dia Biologicamente Activos - BEDD -, Índice Heliotérmico de Huglin -HI - e Índice de Frescura das Noites - CI) mostra um aumento significativo da temperatura ao longo dos anos que pode ser atribuído às alterações climáticas. Por sua vez o índice de secura (IS) apresenta uma tendência negativa mas não significativa. Com base numa análise de regressão múltipla passo a passo verificou-se que estes IB clássicos permitiram explicar apenas 9 e 45% da variabilidade do teor em açúcar e da acidez total à vindima, respectivamente. Numa tentativa de melhorar a proporção da variabilidade explicada foram construídos novos índices baseados na generalização de diversos índices clássicos a diferentes períodos cronológicos e fenológicos da casta Touriga Nacional. A utilização destes novos índices na análise de regressão múltipla permitiu uma melhoria importante da proporção da variabilidade explicada (52% para o teor em açúcar e 65,5% para a acidez total). Os nossos resultados mostram que a utilização de novos IB permite uma explicação mais robusta da variabilidade da composição da uva à vindima comparativamente à utilização dos IB clássicos.

Palavras chave: Acidez total, índices bioclimáticos, modelos estatísticos, teor em açúcar, videira.

1. INTRODUÇÃO

Os elementos climáticos, ao influenciarem todas as fases do ciclo biológico da videira, constituem um factor chave em Viticultura, determinando a distribuição geográfica da cultura. Dentro dos vários elementos climáticos, a temperatura tem um papel central influenciando o ciclo vegetativo e reprodutivo, a composição da uva e o estilo e qualidade

do vinho (WINKLER et al., 1974, GLADSTONES, 2011). Esta importância da temperatura levou os investigadores a proporem diversos índices bioclimáticos (IB) baseados na temperatura como é o caso dos seguintes índices (JONES et al., 2010): Temperatura média da estação crescimento (GST), Índice de Winkler (GDD), Graus Dia Biologicamente Activos (BEDD), Índice Heliotérmico de Huglin (HI) e Índice de Frescura das Noites (CI). Para além da temperatura, a disponibilidade hídrica tem também um importante papel em Viticultura, sobretudo em regiões quentes e secas como é o caso das regiões de clima Mediterrânico. Foram propostos vários índices que entram em consideração com o factor hídrico (ex. Índice Hidrotérmico de Branas, Bernon e Levadoux, Índice de Constantinescu, Índice de Hidalgo, Índice de Riou) sendo o Índice de Riou (DI) actualmente um dos mais utilizados. O DI é baseado num balanço hídrico potencial durante o período teórico abrolhamento – vindima (1 Abril- 30 Setembro no hemisfério norte) (RIOU, 1994).

Os IB são usados sobretudo como ferramentas de zonagem vitícola, com o objectivo de classificar e comparar a aptidão das regiões para a produção de uva, de identificar e caracterizar novas áreas de plantação e de determinar as melhores castas a plantar em cada uma das regiões (GLADSTONES, 2000; TONIETTO E CARBONNEAU, 2004; TONIETTO et al., 2012).

Alguns autores também utilizam os IB para estimar o potencial de maturação da uva, no entanto, na maior parte dos casos, os modelos obtidos apenas explicam uma baixa proporção da variabilidade da composição da uva à vindima (RIOU, 1994; GIOMO et al.; 1996; EDIGER et al., 2000). Existem várias razões que justificam a fraca correlação dos IB clássicos com a composição da uva. Uma das razões reside no facto daqueles índices não contemplarem outros parâmetros climáticos além da temperatura e de considerarem, em geral, apenas o período global abrolhamento-vindima, não fornecendo qualquer indicação sobre cada uma das fases intermédias do ciclo biológico, como por exemplo, o período de maturação das uvas.

Este trabalho tem por objectivo testar a importância relativa de vários índices climáticos e bioclimáticos (clássicos e novos) na explicação da variabilidade da composição da uva da casta Touriga Nacional, na região do Dão.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Caracterização das parcelas experimentais

Foram recolhidos dados vitícolas, relativos ao período 1961 a 2010, de duas parcelas experimentais localizadas no Centro de Estudos Vitivinícolas do Dão, em Nelas. Os dados relativos ao período 1961 a 1987 foram colhidos numa parcela de vinha plantada no âmbito de um estudo de afinidades casta/porta enxerto. Apesar da parcela compreender mais castas e porta-enxertos neste trabalho usaram-se apenas dados da casta Touriga Nacional enxertada em sete porta-enxertos (420A, 161-49, 3309 Couderc, 110 Richter, 99 Richter, 420 A e 161-49). As videiras eram conduzidas em monoplano vertical ascendente, podadas em 'Guyot' duplo e espaçadas 1,1 m na linha e 1,8 m na entrelinha. Os dados do periodo de 1995 a 2010 foram colhidos em duas parcelas mais recentes, plantadas no mesmo centro de investigação, com uma pequena diferença na distância na linha (1,8 m x 1,0 m) e podadas a talão em cordão Royat bilateral. Os porta-enxertos usados foram o 1103P, SO4, 99R e o 110R.

O solo é de origem granítica, com textura grosseira e pH ácido, com muito boa capacidade de infiltração, baixo teor em matéria orgânica, teor de fósforo médio e elevado teor em potássio.

2.2. Dados Climáticos

Os dados diários da temperatura mínima e máxima e da precipitação foram colhidos numa estação meteorológica localizada no Centro de Investigação, junto aos campos experimentais. Foram determinados para cada ano os seguintes índices bioclimáticos clássicos: Temperatura média da estação crescimento (período abrolhamento-vindima) – GST (JONES *et al.*, 2010), Índice de Winkler (graus dia de crescimento) – GDD (AMERINE e WINKLER, 1944), Graus Dia Biologicamente Activos (BEDD) (GLAD-STONES, 1992), Índice Heliotérmico de Huglin (HUGLIN, 1978), Índice de Frescura das Noites (CI) (TONIETTO, 1999) e o Índice de secura (DI) (RIOU, 1994).

Na ausência de dados diários relativos à radiação solar, velocidade do vento e humidade relativa, foi usado o algoritmo de Hargreaves para o cálculo da ET0 (ALLEN *et al.*, 1988).

Com base em dados cronológicos e fenológicos foi também calculado um conjunto de novos índices climáticos e bioclimáticos

2.3 Dados fenológicos e composição da uva à vindima

As datas de abrolhamento foram registadas quando 50% dos olhos atingiram o estado B de Baggiolini (BAGGIOLINI, 1952). As datas de floração foram obtidas quando 50% das flores estavam abertas. As datas de pintor foram registadas quando 50% dos bagos mudaram de cor.

O teor em açúcar e a acidez total foram determinados em amostras de mosto recolhidas por cada porta-enxerto.

2.4 Análise de dados

Foi construída uma base de dados com os índices climáticos, fenológicos e vitícolas (teor em açúcar e acidez total) disponíveis. A falta de alguns dados, originou o seguinte conjunto de valores perdidos: Fenologia: 1989, 1990, 1993 e 1998; Teor em açúcar: 1988 a 1994 e 1998; Acidez total: 1988 a 1995 e 1999 a 2003; Clima: 1973, 1975, 1992 a 1997.

Dado o elevado número de índices obtidos, antes de se proceder à análise de regressão, foi efectuada uma prévia selecção das variáveis independentes recorrendo a um teste de multicolinearidade e a vários outros testes estatísticos de selecção de variáveis disponíveis no software Statistica 8 (Statsoft, Tulsa, OK). Com base no sub-conjunto de índices climáticos e/ou bioclimáticos remanescente foi efectuada uma regressão linear múltipla entre os parâmetros de composição dos bagos (variáveis dependentes) e os índices climáticos e/ou bioclimáticos (variáveis independentes). A selecção das variáveis no modelo foi feita pelo método passo a passo com um valor crítico do F de 0,10 para a sua entrada ou saída.

3. RESULTADOS

3.1. Índices Bioclimáticos Clássicos

Os valores da Temperatura Média da Estação de Crescimento variam entre 15,9 e 19,6

 $^{\circ}$ C, com uma média de 17,4 ± 0,7 $^{\circ}$ C no período analisado. A evolução de 1963 a 2010 revela um incremento de 0,3 $^{\circ}$ C a cada dez anos (Fig. 1A). O Índice Heliotérmico de Huglin apresenta, no período analisado, uma variação entre 1679,7 e 2548,0 $^{\circ}$ C.dia, com um aumento de 64,5 $^{\circ}$ C.dia a cada dez anos (Fig. 1B). Este aumento originou uma alteração da classificação proposta por HUGLIN (1978). Assim, de acordo com os intervalos estabelecidos por aquele autor, a classificação da região até 1984 era de clima temperado, passando após 1985 a ser classificada como temperado quente.

O Índice de Winkler apresenta uma média de $1601,3 \pm 147,1$ °C.dia, com um aumento de 6,3 °C.dia no período em análise. A mesma tendência é observada pela análise do índice Graus Dia Biologicamente Activos, com uma média de $1380,7 \pm 77,4$ °C.dia no período analisado. Este índice também apresentou um aumento de 2,5 °C.dia por ano.

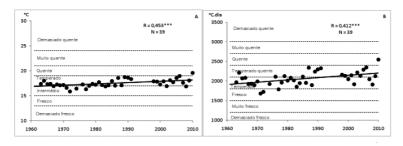


Figura 1 – Evolução da Temperatura Média da Estação de Crescimento (A) e do Índice Heliotérmico de Huglin (B) durante 39 anos, entre 1963-2010. As linhas a tracejado representam os limites de classe de cada um dos índices.

Numa tentativa de explicar a variabilidade da composição dos bagos a partir dos índices bioclimáticos clássicos foi efectuada uma análise de regressão passo a passo entre o teor em açúcar (TA) e acidez total (AcT) do mosto (variáveis dependentes) e os IB (variáveis independentes). Para o modelo explicativo do TA foram seleccionadas três variáveis (DI, CI e HI), sendo o DI e o HI as variáveis com a maior e menor contribuição para a explicação da variabilidade, respectivamente (Tabela 1). O modelo final explica apenas 9% da variabilidade do TA (Eq.1).

TA (°Brix) =
$$14,700 + 0,002 * DI + 0,164 * CI - 0,002 * HI (Eq. 1)$$

 $R^2 = 0.09 (p < 0.01): n = 127$

No modelo da acidez total entraram apenas duas variáveis. O HI foi a primeira variável a entrar, com um contributo de 33% para a explicação da variabilidade, e o DI o último a entrar no modelo, com um contributo de 12%. O modelo final encontrado explica 45% da variabilidade da AcT (Eq.2).

AcT (g ac. tart./L) =
$$21.5 - 0.007 * HI - 0.007 * DI$$
 (Eq. 2)
 $R^2 = 0.45 (p < 0.001); n = 122$

Tabela 1 - Sumário da análise de regressão passo a passo entre o teor em açúcar (TA) e a acidez total (AcT) do mosto (variáveis dependentes) e os índices bioclimáticos clássicos (variáveis independentes). HI – Índice Heliotérmico de Huglin; CI - Índice de Frescura das Noites; DI – Índice de secura. (TA: n=127; AcT: n=122)

Tabela 1 - Sumário da análise de regressão passo a passo entre o teor em açúcar (TA) e acidez total (AcT) do mosto (variáveis dependentes) e os índices bioclimáticos clássic (variáveis independentes). HI – Índice Heliotérmico de Huglin; CI - Índice de Frescura d Noites; DI – Índice de secura. (TA: n=127; AcT: n=122)

Variável	Variável			R ²	
Dependente	Independente	Passo	\mathbb{R}^2	Múltiplo	р
	DI	1	0,050	0,050	0,011
TA (°Brix)	CI	2	0,017	0,067	0,133
	HI	3	0,027	0,094	0,056
AcT	HI	1	0,333	0,333	< 0,001
(g ac.tart/L)	DI	2	0,116	0,449	< 0,001

3.2 Outros Índices climáticos e bioclimáticos

Numa tentativa de aumentar a proporção de variabilidade explicada pelos modelos, na análise de regressão passo a passo os IB clássicos foram substituídos por um conjunto de novos índices climáticos e bioclimáticos (*vide* Cap. 2). No novo modelo do TA entraram seis variáveis (Tabela 2), sendo a Temperatura média do mês de Julho (Tmed_{Jul}) a primeira variável a ser seleccionada, com um contributo de 9,7% para a variabilidade explicada, e a precipitação do período pintor-vindima (Precip_{PV}) a última a ser seleccionada com um contributo de 4,4%. O modelo final explica 52% da variabilidade do TA do mosto (Eq.3).

$$TA (^{\circ}Brix) = -47,413 + 0,542 * Tmed_{Jul} + 0,137 * Vind_{data} + 0,220 * Tmed_{pre \ Vind} + 0,403 * Tmed_{Set} - 0,017 * D_{Set} - 0,004 * Precipp_V (Eq. 3)$$

 $R^2 = 0.52$ (p < 0.001); n = 127 (para legenda consultar a Tabela 2).

No modelo da AcT entraram seis variáveis, com a evapotranspiração no período Março a Setembro (ET0_(Mar-Set)) a ser seleccionada em primeiro lugar, explicando 29,3% da variabilidade. A evapotranspiração no período pintor - vindima (ET0_{PV}) foi a última variável a ser seleccionada explicando apenas 2,8% da variabilidade (Tabela 2). O modelo final explica 65,5% da variabilidade da acidez total do mosto observada (Eq.4).

$$\label{eq:action} \begin{split} \text{AcT (g ac. tart./L)} = 27,217 - 0,022 * & \text{ETO}_{(Mar\text{-}Set)} + 0,412 * \text{AmplT}_{Ago} - 0,025 * \\ & \text{ETR}_{Jul} - 0,025 * \text{Precip}_{(Ago\text{+}Set)} - 0,026 * \text{D}_{Set} - \\ & 0,007 * & \text{ETO}_{PV}\left(\text{Eq. 4}\right) \end{split}$$

 $R^2 = 0.65$ (p<0.001); n = 132 (para legenda consultar a Tabela 2).

Tabela 2 - Sumário da análise de regressão passo a passo entre o teor em açúcar (TA) e a acidez total (AcT) do mosto (variáveis dependentes) e os novos índices climáticos e bioclimáticos (variáveis independentes). (n=127 TA; n=132 AcT).

Variável Dependente	Variável Independente	Passo	\mathbb{R}^2	R ² Múltiplo	р
_	$Tmed_{Jul}$	1	0,093	0,093	<0,001
	$Vind_{data}$	2	0,100	0,193	<0,001
ΓΑ (°Brix)	Tmed _{pre-vind}	3	0,139	0,332	<0,001
IA (BIIX)	$Tmed_{Set}$	4	0,056	0,387	<0,01
	\mathbf{D}_{Set}	5	0,088	0,475	<0,001
	$Precip_{PV}$	6	0,044	0,519	<0,01
	ET0 _(Mar-Set)	1	0,294	0,294	<0,001
	$AmpT_{Ago}$	2	0,067	0,361	<0,001
AcT	ETR_{Jul}	3	0,085	0,446	<0,001
(g ac.tart/L)	Precip(Ago+Set)	4	0,076	0,522	<0,001
	\mathbf{D}_{Set}	5	0,105	0,627	<0,001
	ET0 _{PV}	6	0,028	0,655	<0.01

Legenda: Tmed_{Jul} - Temperatura média do mês de Julho; Vind_{data} - Data de vindima; Tmed_{pre-vind} - Temperatura média nos 15 dias anteriores à data de vindima; Tmed_{Set} - Temperatura média no mês de Setembro; D_{Set} - Défice hídrico no mês de Setembro (método Thornthwaite-Matter); Precippy - Precipitação acumulada no periodo Pintor-Vindima; ETO_(Mar-Set) - ETO acumulada nos meses de Março a Setembro (método Hargreaves); AmpTA_{go} - Amplitude térmica no mês de Agosto; ETR_{Jul} - ETR acumulada no mês de Julho (método Thornthwaite-Matter); Precipi_{CAgo+Set}) - Precipitação acumulada nos meses de Agosto e Setembro; ETO_{DV} - ETO acumulada no periodo Pintor-Vindima (método Hargreaves).

4. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

As tendências observadas nos índices bioclimáticos clássicos revelam um aumento da temperatura do ar no período em análise o que é consistente com os cenários de alteração climática previstos para Portugal (PINTO e BRANDÃO, 2002; PINTO et al., 2006). Os nossos dados revelam que os índices bioclimáticos clássicos baseados na temperatura do ar não são suficientemente robustos para explicar a variabilidade da composição da uva à vindima. A utilização de novos índices como variáveis independentes permitiu

uva à vindima. A utilização de novos índices como variáveis independentes permitiu uma melhoria importante da proporção da variabilidade explicada. O modelo obtido para o teor em açúcar (Eq. 3) mostra um efeito positivo quer da temperatura (mês antes do pintor e durante a maturação) quer da data de vindima na acumulação de açúcares no bago. Por sua vez a precipitação no período pintor-vindima e o défice hídrico no mês de Setembro têm um efeito oposto à temperatura, afectando negativamente o teor em açúcar nos bagos, provavelmente por um efeito de diluição proporcionado pela maior disponibilidade hídrica (WILLIAMS e MATTHEWS, 1990).

O modelo obtido para a acidez total revela um efeito negativo da ETO (acumulada durante todo o ciclo e em particular no período de verão), da precipitação e do deficit hídrico durante o período de maturação, traduzindo os conhecidos efeitos das menores disponibilidades hídricas na redução da acidez total do mosto, sobretudo em ácido málico (ESTEBAN *et al.*, 1999; WILLIAMS e MATTHEWS, 1990).

Em conclusão podemos afirmar que, neste "terroir do Dão", a utilização de novos IB permite uma explicação mais robusta da variabilidade da composição da uva à vindima comparativamente à utilização dos IB clássicos.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pela FCT – Fundação para a Ciência e Tecnologia - no âmbito do projecto PTDC/AAC-AMB/105024/2008 - SIAMVITI - Alterações climáticas em Viticultura: Cenários, Impactos e Medidas de Adaptação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allen, R.G.; Pereira, L.S.; Raes, D.; Smith, M. (1988). Crop evapotranspiration Guidelines for computing crop water requirements - FAO Irrigation and drainage paper 56. FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 465 p.
- Amerine, M.A.; Winkler, A.J. (1944). Composition and quality of musts and wines of California grapes. *Hilgardia*, 15: 493-675.
- Baggiolini, M. (1952). Les stades repères dans le development annuel de la vigne et leur utilisation pratique. R. Romande d'Agriculture, de Viticulture et d'Arboriculture, 8: 4-6.
- Ediger, B.; Fisher, K.H.; Ker, K. (2000). Developing regional harvest prediction areas using heat unit accumulation, phenology and fruit quality parameters. Proceedings of the 5th International Symposium Cool Climate. Australia.
- Esteban, M.A.; Villanueva, M.J.; Lissarrague, J.R., (1999). Effect of irrigation on changes in berry composition of Tempranillo during maturation. Sugars, organique acids and mineral elements. *Am. J. Enol. Vitic.* 50: 418–433.
- Giomo, A.; Borsetta, P.; Zirono, R. (1996). Grape quality: research on the relationships between grape composition and climatic variables. *Acta Horticulturae*, 427: 227-285.
- Gladstones, J. (1992). Viticulture and environment. Winetitles, Adelaide, Australia.
- Gladstones, J. (2000). Past and future climatic indices for viticulture. Proceedings of the 5th International Symposium Cool Climate. Australia.
- Gladstones, J. (2011). Wine, Terroir and Climate Change. Wakefield Press. Adelaide, SA.
- Hidalgo, L. (1980). Caracterizacion macrofisica del ecosistema medio-planta en los vinedos espanoles. Madrid, Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. 255p. (Comunicaciones I.N.I.A. Serie Produccion Vegetal, 29).
- Huglin, P. (1978). Nouveau mode d'évaluation des possibilités héliothermiques d'un milieau viticole. C.R. Acad. Agr. France, 64: 1117-1126.
- Huglin, P. (1986). Biologie et écologie de la vigne. Paris, Payot Lausanne. 375p.
- Jones, G.V.; Duff, A.A.; Hall, A.; Myers, J.W. (2010). Spatial analysis of climate in winegrape growing regions in the Western United States. Am.J.Enol. Vitic. 61 (3): 313-326.
- Pinto, P.A.; Brandão, A.P. (2002). Agriculture. In: Santos, F.D.; Forbes, K.; Moita, R. (eds). Climate change in Portugal. Scenarios, Impacts and Adaptation Measures. SIAM project. pp. 221-240.
- Pinto, P.A.; Braga, R.; Brandão, A.P. (2006). Agricultura. In: Santos, F.D.; Miranda, P. (eds). Alterações climáticas em Portugal. Cenários, Impactos e Medidas de Adaptação. Projecto SIAM II, pp. 209-231. Gradiva, Lisboa

- Riou, C. (1994). Le déterminisme climatique de la maturation du raisin: application au zonage de la teneur en sucre dans la communauté européenne. Luxembourg, Office des Publications Officielles des Communautés Européennes. 322p.
- Tonietto, J. (1999). Les macroclimats viticoles mondiaux et l'influence du mésoclimat sur la typicité de la Syrah et du Muscat de Hambourg dans le sud de la France: méthodologie de caractérisation. (Thèse Doctorat). École Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, Montpellier. 233 p.
- Tonietto, J.; Carbonneau, A. (2004). A multicriteria climatic classification system for grape-growing regions worldwide Agricultural and Forest Meteorology. 124: 81-97
- Tonietto. J; Sotes, V.; Gomes-Miguel, V. (2012). Clima, Zonificación y Typicidad del vino en regiones vitivinícolas IberoAmericanas. Cyted, Madrid
- Williams, L.E.; Matthews, M.A., (1990). Grapevine. In: Stewart, B.A., Nielsen, D.R. (Eds.), Irrigation of Agricultural Crops. Series of Agronomy, vol. 30. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA, pp. 1019–1055.
- Winkler, A.J.; Cook, J.A.; Kliwer, W.M.; Lider, L.A. (1974). General Viticulture. University of California Press, Berkeley. 710 p.
- Zorer, R.; Bertoldi, D.; Malacarne, M.; Nicolini, G.; Larcher, R.; Bertamini, M.; Mescalchin, E. (2007). Proceedings XV GESCO International Symposium, Inst. Agriculture and Tourism, Porec, Croatia, 20-23 June 2007: Vol. 2: 1085-1092.

ALTERNATIVAS DE PLANTAÇÃO DA VINHA NA REGIÃO VINHOS VERDES: TUBOS PROTECTORES, AGROBIOFILM OU SOLO NU

Rogério de CASTRO^(1,2,4); Amândio CRUZ^(1,2); Carlos RODRIGUES⁽³⁾; Jorge CORREIA⁽¹⁾; Ricardo COSTA⁽¹⁾; Miguel GUERREIRO⁽¹⁾; Joana de CASTRO⁽⁴⁾

RESUMO

À época da romanização no nordeste português terá co-habitado a vinha estreme com uveiras em bordadura. Em meados do século passado, volvidos 20 séculos dá-se o regresso da vinha ao interior dos campos - ressurge a vinha estreme ou contínua, mas integrando princípios tecnológicos oriundos das tradicionais bordaduras. A região dos Vinhos Verdes, dinâmica, criativa e inovadora, é por sua vez parca na sistematização das técnicas culturais e no emparcelamento funcional (Castro, 2011). Porém, para ser competitiva, terá de integrar na actual dinâmica de novas plantações, conceitos tecnológicos conducentes a rendimentos sustentáveis, com menores custos e sobretudo com reduzido período de carência económica (Castro et al., 2004; Mota et al., 1989). Neste sentido, foi instalado em 2011 um ensaio com a casta Loureiro, enxertada em 1103P, com cinco tratamentos de manutenção do solo na linha e protecção das cepas à plantação: sendo 3 modalidades de agrobiofilm (mulch biodegradável e compostável no solo – polímero produzido a partir de amido de milho e óleos vegetais), tubos de protecção (estufins) e solo nu (tradicional). Dos primeiros resultados conclui-se da inviabilidade (agronómica e económica) da modalidade "solo nu" (tradicional) e por sua vez significativas vantagens dos tubos protectores e sobretudo do mulch biodegradável. Os resultados das duas campanhas mostram que as videiras com agrobiofilm, logo no ano da plantação, apresentaram vigor muito superior ao das outras modalidades (solo nu e tubos protectores), mantendo-se esta superioridade no ano seguinte. Na campanha de 2012, as plantas oriundas daquelas modalidades (agrobiofilm) produziram cerca de 9 t/ha, enquanto que nas de "solo nu" e tubos protectores", ainda não houve produção.

Palavras-chave: vinhas jovens, controlo de infestantes, mulch biodegradável, vigor e rendimento.

¹⁻ISA - Instituto Superior de Agronomia, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa

^{2 –} CBAA – Centro de Botânica Aplicada à Agricultura, ISA

^{3 –} Silvex, Indústria de plásticos e papéis, SA

^{4 –} Quinta de Lourosa, Soc. Agrícola, Lda., Sousela, Lousada.

^{*} Corresp. author: Rogério de Castro. Instituto Superior de Agronomia, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal, Tel.; 213653100, E-mail: rcastro@isa.utl.pt

1- INTRODUÇÃO

Tradicionalmente a instalação da vinha era realizada em solo nu na zona da linha de plantação, isto é, sem qualquer apoio colateral (estufins, mulch,...). Nessas condições o combate às infestantes na linha, será naturalmente manual, à enxada — trabalho penoso e de elevado custo em mão-de-obra. Acresce, que nestas condições torna-se dificil operar atempadamente e o rápido desenvolvimento das infestantes provoca concorrência com as jovens videiras (hídrica, nutricional, luminosa, ...) criando assim um ambiente favorável à ocorrência de doenças criptogâmicas (míldio, botrytis, black-rot, ...). Actualmente, em grande parte das regiões vitícolas de Portugal, as novas vinhas, com relevância para os Vinhos Verdes, continuam a ser instaladas em solo nu, com desenvolvimento reduzido nos primeiros anos, dilatando-se o período de carência económica, particularmente grave na conjuntura actual. Recentemente tem-se expandido e generalizado o uso de tubos protectores (estufins), de cerca de 50 cm de altura, com resultados interessantes, ao nível cultural e do desenvolvimento das videiras.

O mulch de plástico (essencialmente de polietileno) é utilizado desde a década de 50 do século passado, com o objectivo de modificar o microclima a que as plantas estão sujeitas. Em vinha, a utilização deste mulch não é muito comum, excepto em algumas regiões de França. Como principais vantagens poderá referir-se: controlo de infestantes anuais; aumento da temperatura do solo, melhorando a actividade do sistema radicular; manutenção da humidade do solo, uma vez que evita a evaporação da água; melhoria da estrutura do solo; diminuição da lixiviação de nutrientes e da erosão hídrica do solo.

No entanto, esta técnica está associada a algumas desvantagens, nomeadamente o elevado custo da sua remoção do terreno e eventuais impactos ambientais negativos.

Procurando uma solução alternativa, foi desenvolvido pela "Silvex" no âmbito do projecto FP7 AGROBIOFILM, um polímero biodegradável e compostável no solo, com origem em amido de milho e outros óleos vegetais.

Assim, instalou-se um ensaio na região dos Vinhos Verdes – Quinta de Lourosa, Lou-sada, com o objectivo de comparar o tradicional solo nu, com outras alternativas de gestão do solo (e combate a infestantes) ao longo da linha.

2- MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho decorreu na Quinta de Lourosa – Sociedade Agrícola Lda., propriedade privada no concelho de Lousada, na Região Demarcada dos Vinhos Verdes. A exploração está localizada no Vale do Sousa e encontra-se entre os 233 e 315 m de altitude.

A parcela do ensaio está situada numa vinha de meia encosta, com orientação das linhas Norte-Sul. O compasso de plantação é de 3 m ↔ 1,5 m, correspondendo a uma densidade de 2 222 videiras/ha.

O solo é originário de formações graníticas e possui textura franco-arenosa e segundo Thornthwaite (Galhano, 1986), esta região possui um clima tipicamente húmido ou super húmido, mesotérmico, com pequena a grande deficiência de água no Verão, predominantemente submetido à influência marítima.

A plantação da vinha realizou-se em 2011, com enxertos-prontos da casta Loureiro em 1103P

O delineamento experimental do ensaio é do tipo "blocos casualizados", com 3 repetições. Cada unidade experimental é constituída por quatro "claros" que englobam 16 plantas e as modalidades em estudo são:

- Solo nu (tradicional)
- Tubos de protecção (estufins)
- Mulch/Agrobiofilm 25 µm de espessura (25F1)
- Mulch/Agrobiofilm 40 µm de espessura (40F1)
- Mulch/Agrobiofilm 70 µm de espessura (70F1)

O potencial hídrico foliar de base (ψ_b) foi determinado com uma câmara de pressão, como descrito por Scholander *et al.* (1965), em 23 de Agosto e 13 de Setembro de 2011. Em cada modalidade foram colhidas, em videiras diferentes, 4 folhas adultas.

A medição das trocas gasosas ao nível dos estomas foi realizada com um sistema portátil (modelo ADC-LCA4). Estas medições foram efectuadas em 13 de Setembro de 2011 em 4 folhas por modalidade, bem expostas e em condições atmosféricas estáveis (céu limpo).

O vigor foi avaliado pela medição do comprimento dos sarmentos em duas datas do ciclo vegetativo de 2011, e à poda de 2011 e 2012, registou-se o número de varas de cada cepa e o peso da lenha de poda.

Na campanha de 2012, nas videiras provenientes das modalidades de agrobiofilm, procedeu-se à caracterização da produção por cepa (número e peso dos cachos) e à avaliação global das características do mosto à vindima.

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1- Comportamento ecofisiológico

Na figura 1, observam-se as disponibilidades hídricas na zona de desenvolvimento das raízes, expressas através do potencial hídrico foliar de base. Constata-se que os valores medidos se situam em zona de conforto hídrico (Deloire *et al.*, 2003; Ojeda, 2001) tal como convém no período de instalação da planta (primeiros anos). Embora sem relevância, houve certa tendência para em 23 de Agosto as plantas das modalidades de *agrobiofilm* apresentarem maior conforto hídrico, enquanto que a 13 de Setembro a situação se inverte.

A medição da taxa fotossintética a 13 de Setembro de 2011 indica genericamente níveis de assimilação líquida elevada, a qualquer hora do dia em todas as modalidades de *agrobiofilm*, não se encontrando quaisquer diferenças significativas entre elas (figura 2).

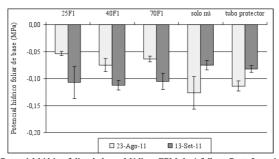


Figura 1 – Potencial hídrico foliar de base. Média \pm EPM de 4 folhas. Casta Loureiro, Quinta de Lourosa, 2011.

As modalidades de *solo nu* e *tubos protectores* apresentaram níveis elevados durante a manhã, seguidos de quebra acentuada ao longo do dia.

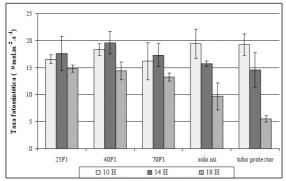


Figura 2 – Taxa fotossintética ao longo do dia. Média \pm EPM de 4 folhas. Casta Loureiro, Quinta de Lourosa, 2011.

3.2- Caracterização do crescimento e do vigor

No primeiro ano (ano da plantação da vinha/instalação do ensaio), a monitorização do comprimento dos sarmentos em duas datas, 3 Junho e 23 de Agosto, revelou claramente menor desenvolvimento das videiras da modalidade *solo nu* em relação a qualquer uma das outras (tabela 1).

Na tabela 2, observa-se que o número de varas por cepa, quer em 2011 quer em 2012, é maior nas modalidades com *mulch*, oscilando entre o dobro e triplo relativamente às duas outras modalidades.

Tabela 1 – Comprimento médio de sarmentos por modalidade. Casta Loureiro, Quinta de Lourosa, 2011.

	3-Jun-11	23-Ago-11
25F1	18,0 <u>a</u>	131 <u>ab</u>
40F1	18,2 <u>a</u>	139 <u>a</u>
70F1	19,4 <u>a</u>	149 <u>a</u>
solo nu	11,2 <u>b</u>	41 <u>c</u>
tubo protector	20,6 <u>a</u>	106 <u>b</u>
Sig.	***	*

Por sua vez, o peso da lenha de poda é significativamente superior nas modalidades de *mulch*, sendo em 2011 cerca de 15 vezes superior ao *solo nu* e 4 vezes em relação aos *estufins*. Em 2012, manteve-se a significância, sendo o valor deste parâmetro em qualquer dos *mulch*, cerca do dobro das outras duas modalidades.

Tabela 2 – Influência da modalidade no número e peso médio da vara e no peso total de lenha de poda por cepa. Casta Loureiro, Quinta de Lourosa, 2011 e 2012.

Ano	Modalidade	N° Varas/cepa	Peso da lenha poda/cepa (g)	Peso/vara (g)
	25F1	4,2 <u>a</u>	306,0 <u>a</u>	73,8
	40F1	3,6 <u>a</u>	294,3 <u>a</u>	82,6
11	70F1	3,9 <u>a</u>	359,8 a	92,8
201	solo nu	1,7 <u>b</u>	18,8 <u>b</u>	11,0
	tubo protector	1,2 <u>c</u>	65,4 <u>b</u>	56,1
	Sig.	*	***	na
	25F1	3,5 <u>a</u>	404,2 <u>a</u>	121,1 bc
	40F1	3,5 a	393,1 <u>a</u>	109,3 c
2012	70F1	3,4 a	443,8 <u>a</u>	130,3 abc
20	solo nu	1,0 <u>b</u>	181,3 <u>b</u>	181,3 a
	tubo protector	1,0 <u>b</u>	175,0 <u>b</u>	175,0 <u>ab</u>
	Sig.	***	***	*

3.3- Tempo de trabalho no combate a infestantes

No que se refere aos custos de manutenção decorrentes do combate a infestantes, observou-se elevado número de horas de mão-de-obra (50 a 65 h/ha) em duas sachas realizadas na modalidade *solo nu*, em virtude da impossibilidade de aplicar herbicida. Por seu lado, nas modalidades passíveis de aplicação de herbicida, o tempo gasto é insignificante, ficando-se pelas 1,3 h/ha (figura 3). Nesta figura, a coluna *agrobiofilm*/monda manual, corresponde ao tempo realmente gasto na operação sacha. Porém, este facto deve-se à exigência, no presente ensaio, da criação de um pequeno talude sobre o *mulch*, de modo a permitir a rega por gravidade (usada em todo o ensaio), obrigando à limpeza manual desta banda, que numa situação de rega gota-a-gota seria dispensável, permitindo assim a aplicação de herbicida e ao gasto de apenas 1,3 h/ha.

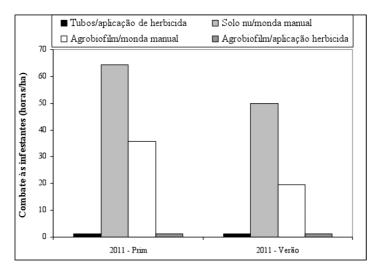


Figura 3 – Tempos de trabalho de combate às infestantes. Casta Loureiro, Quinta de Lourosa, 2011.

3.4- Caracterização da Produção

Quanto à produção em 2012 (2ª folha), foi ainda nula nas modalidades *solo nu* e *tubos de protecção*. Por outro lado, nas modalidades de *agrobiofilm*, obteve-se uma produção de relevante valor económico (cerca de 9 t/ha) e sem diferenças significativas entre elas (tabela 3).

Tabela 3 – Influência da modalidade nos parâmetros do rendimento. Casta Loureiro, Quinta de Lourosa, 2012.

Modalidade	N° Cachos/cepa	Produção/cepa (Kg)	Peso/cacho (g)	Rendimento (t/ha)
25F1	7,6	4,09	547 <u>a</u>	9,1
40F1	8,5	4,07	482 <u>c</u>	9,0
70F1	7,8	4,06	518 <u>b</u>	9,0
Sig.	n.s.	n.s.	*	n.s.
solo nu	-	-	-	-
tubo protector	-		-	

Após vindima, as uvas das modalidades *agrobiofilm*, foram vinificadas conjuntamente, originando mostos característicos da casta Loureiro e de elevado potencial para a produção de vinho verde (TAP=10.8 %v/v; Ac. Total=8,6 g/l ac. tart; pH=2,95).

4- CONCLUSÕES

A tecnologia tradicional (*solo nu* sem protecção na linha) originou maiores custos de manutenção (combate a infestantes), menor desenvolvimento das videiras e tal como os *estufins* não permitiu obter produção à 2ª folha.

Por outro lado, os *tubos de protecção* revelaram-se os mais expeditos e eficazes na estratégia de combate a infestantes, visto permitirem aplicar herbicidas sem qualquer limitação.

Por sua vez, as modalidades de *agrobiofilm* (nas 3 diferentes espessuras) originaram maior desenvolvimento das videiras, permitindo à primeira poda deixar carga com elevada capacidade produtiva. A sua produção à 2ª folha teve já significado económico (9 t/ha), originando mostos de elevada qualidade, tendo em vista os produtos a que se destinam.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Castro, R. (2011). A viticultura da região dos Vinhos Verdes. Os primórdios e do virar do século à actualidade. *In: Francisco Girão. Um inovador da vitivinicultura do norte de Portugal*, Vol. II, p. 7-41.
- Castro, R.; Mota, T.; Garrido, J.; Pereira, Ma. (2004). Condução na região dos vinhos verdes: 15 anos de experimentação. 6º Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo, 54-62.
- Deloire, A; Carbonneau, A.; Federspiel, B.; Ojeda, H.; Wang, Z.; Costanze, P.,2003. La vigne et l'eau. Progrés Agricole et Viticole, 120, 4: 79-90.
- Galhano, A. (1986). O vinho verde. Uma região demarcada, uma denominação de origem. Ed. Comissão de Viticultura da Região dos Vinhos Verdes. Porto. 33 pp.
- Mota, T.; Castro, R.; Leme, J.; Garrido, J. (1989). Densidade de plantação da vinha e suas implicações económicas e fisiológicas. Resultados de um estudo preliminar sobre a casta Loureiro. 1º Simpósio de ciência e tecnologia em vitivinicultura. EVN, Dois Portos.
- Ojeda, H. (2001). Bases ecophysiologiques et choix tecniques dans la gestion de l'eau dans les vignobles d'Argentine. GESCO XII journées du groupe d'étude des systèmes de conduite de la vigne, Montpellier, France, 1, 75-86.
- Scholander P. F., Hammel, H.T., Bradstreet, E.T., Hemmingsen, E.A. (1965). Sap pressure in vascular plants. Science, 148: 339-346.

PODA MECÂNICA E APLICAÇÃO DE DIFERENTES CORRETIVOS ORGÂNICOS: EFEITO SOBRE A ESTRUTURA DO COBERTO VEGETAL, MICROCLIMA, RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DAS UVAS NA CASTA 'SYRAH'

Manuel BOTELHO^{1*}, Amândio CRUZ¹, Henrique RIBEIRO¹, António ANACLETO², Bento ROGADO³, Erica CABRAL⁴, Jorge RICARDO-DA-SILVA¹, António MEXIA¹, Olga LAUREANO¹, Ernesto VASCONCELOS¹, Rogério de CASTRO¹

RESUMO

A fim de reduzir os custos de poda e aumentar o rendimento, avaliaram-se os efeitos da poda mecânica (poda em sebe) e da aplicação ao solo de diferentes corretivos orgânicos (Resíduos Sólidos Urbanos Compostados, Lamas de ETAR, Pó de Carvão e Estrume). Os ensaios foram instalados em 2012, em duas vinhas de Syrah, localizadas em duas denominações de origem: Lisboa (Quinta do Gradil - Cadaval) e Tejo (Quinta do Côro - Sardoal).

No primeiro ano, não foram observados efeitos significativos, no comportamento das videiras, entre os diferentes tipos de corretivos orgânicos aplicados, provavelmente devido à reduzida precipitação ocorrida desde a sua incorporação no solo. O ano de 2012, excepcionalmente seco, conduziu a valores de potencial hídrico foliar de base muito baixos, refletindo situações de *stress* hídrico severo que limitou o crescimento vegetativo.

A poda mecânica aumentou a carga à poda de 15 para 35 e 51 olhos por videira na Quinta do Gradil e na Quinta do Côro respetivamente. A poda mecânica levou a um aumento do rendimento, devido ao maior número de cachos por videira, não influenciou os parâmetros analíticos das uvas à vindima, com excepção do pH. A poda mecânica provocou ainda uma redução do vigor e da expressão vegetativa.

Palavras-chave: poda em sebe, corretivo orgânico, stress hídrico, rendimento, composição das uvas.

¹⁻ Instituto Superior de Agronomia, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa

²⁻ Sociedade Agro-Alimentar da Mascata, Sardoal

³⁻ Quinta do Gradil, Soc. Vitivinícola SA., Vilar-Cadaval

⁴⁻ Sociedade Agrícola de Rio Frio, S.A., Pinhal Novo-Palmela

^{*} Autor corresp.: Manuel Botelho. Instituto Superior de Agronomia, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal, Tel.; 213653454, E-mail: mbotelho@isa.utl.pt

1 - INTRODUÇÃO

Atualmente, Portugal apresenta uma das mais baixas produtividades vitícolas a nível mundial, com cerca de 4 t.ha⁻¹, o que, apesar da reconhecida qualidade dos seus vinhos, reduz claramente a competitividade deste setor, a nível internacional. Para este fraco desempenho contribuem acima de tudo processos produtivos pouco inovadores, associados à falta de fertilidade dos solos vitícolas.

A adopção de sistemas de poda mecanizada conduz a reduções de mão-de-obra, necessária para esta tarefa, de 54 a 70% (Gatti et al., 2011) e a aumentos significativos de produção, sem perda de qualidade da uva (Gatti et al., 2011; Palma et al., 2010), exceto onde as produções excedem a capacidade produtiva das videiras (Clingeleffer, 2000), podendo até, em várias situações, originar acréscimos de qualidade (Intrieri et al., 2011; Terry & Kurtural, 2011). Carbonneau (1983b) propõe a utilização de podas mecanizadas, do tipo poda em sebe, em situações onde a auto-regulação afete pouco a maturação.

Em termos de vigor, ao longo dos anos, alguns autores referem que as vinhas podadas mecanicamente, mostram uma tendência para a perda de vigor (Lopes *et al.*, 2000; Cruz et al., 2011) que, em parte, está relacionada com a baixa fertilidade do solo onde os ensaios foram realizados, nomeadamente baixos teores de matéria orgânica.

A fonte de matéria orgânica tradicionalmente usada na viticultura portuguesa é o estrume de bovinos e de aves. No entanto, estão cada vez mais disponíveis fontes de matéria orgânica como as lamas das estações de tratamento de águas residuais (lamas ETAR) e os resíduos sólidos urbanos compostados (RSUC), cuja utilização agrícola melhora as propriedades físicas do solo e fornece nutrientes essenciais às plantas (Amlinger *et al.*, 2003; Varennes, 2003),

Recentemente, tem havido estudos internacionais que incidem no resíduo resultante da pirólise de biomassa - biocarvão – o qual consiste numa forma de matéria orgânica que pode ser incorporada no solo e que tem caraterísticas que o tornam adequado para este fim (Lehmann, 2007).

2 – MATERIAL E MÉTODOS

O delineamento experimental é do tipo "split-plot" com 3 repetições. O fator principal é a poda, tendo sido ensaiadas 2 modalidades: poda manual (MAN) – cordão Royat,

bilateral na Quinta do Côro e unilateral na Quinta do Gradil; poda mecânica (MEC) – poda mecânica em sebe simulada.

O fator secundário é o corretivo orgânico adicionado ao solo, tendo sido instaladas 4 modalidades: estrume bovino (ESTR) – 23.000kg/ha; Resíduos Sólidos Urbanos Compostados (RSUC) – 15.500kg/ha; Lamas de ETAR (ETAR) - 31.300kg/ha; pó de carvão (BIOC) – 8.600kg/ha; testemunha (TEST). A quantidade de cada corretivo orgânico foi calculada tendo por base a aplicação de 5.000kg/ha de matéria orgânica.

2.1 - Estado hídrico

O estado hídrico do solo na zona radicular foi determinado com recurso ao potencial hídrico foliar de base (μ_b), o qual foi medido com uma câmara de pressão, como descrito por Scholander et al. (1965), ao longo do ciclo vegetativo, até próximo da vindima. Em cada modalidade de poda foram colhidas 30 folhas adultas do terço médio dos sarmentos.

2.2 - Estrutura do coberto vegetal

A estimativa da Superfície Externa do Coberto Vegetal (SECV), aqui designada por Superfície Foliar Exposta (SFE), proposta por Murisier & Zufferey (1997), foi obtida a partir do perímetro exposto, tendo sido realizadas 90 medições em cada modalidade de poda com recurso a uma régua graduada de 2,5m de comprimento.

2.3 - Rendimento, qualidade e vigor

Para determinar os componentes do rendimento, foram contabilizados o número de cachos por videira e o seu peso à vindima. Em cada modalidade foi contabilizada a produção de 18 videiras, previamente eleitas e equilibradas. As vindimas foram realizadas a 10 de Setembro na Quinta do Côro e a 1 de Outubro na Quinta do Gradil.

Os parâmetros analíticos das uvas resultaram da colheita de 3 amostras de 100 bagos por modalidade e sua análise laboratorial.

Durante a poda, para avaliar o vigor e a expressão vegetativa dos diferentes tratamentos, contabilizaram-se o número de varas existentes em cada videira e o seu peso. Em cada modalidade foi contabilizada a lenha de poda das 18 videiras em que se avaliou o rendimento.

2.4 - Análise Estatística

A análise dos resultados foi realizada com recurso ao programa MOExcel e a análise de variância feita através do programa Statistica 6.0.

3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 - Potencial Hídrico Foliar de Base

O estado hídrico da vinha ao longo do período vegetativo foi avaliado através do potencial hídrico foliar de base (ψ) e é apresentado na Figura 1. Em qualquer dos ensaios observa-se que ambas as modalidades partem de valores idênticos de ψ_b , existindo diferenças significativas a partir de 4 de Julho na Quinta do Côro e de 24 de Julho na Quinta do Gradil. Estas diferenças foram-se acentuando até ao final do ciclo.

O fato de a MEC ter conduzido a valores de ψ_b inferiores à MAN resulta, provavelmente, das diferenças significativas na superficie foliar exposta (SFE – Tabela 1), que é a área foliar mais reativa, e portanto com maior taxa transpiratória (Carbonneau, 1995), que se traduziram no esgotamento da reserva hídrica na zona radicular. Segundo Williams & Ayars (2005), a área de solo ensombrada pela vinha é diretamente proporcional ao uso de água pelas videiras. Dado que a largura da sebe foi maior na MEC (Largura Média da Sebe – Tabela 1) e a área de solo ensombrada é diretamente proporcional a este parâmetro, houve um maior consumo de água nesta modalidade.

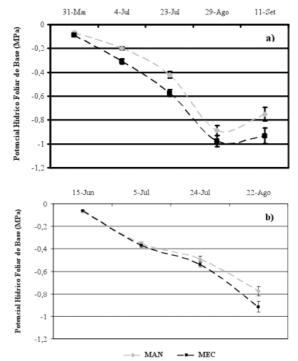


Figura 1 – Evolução sazonal do potencial hídrico foliar de base: a) Quinta do Côro; b) Quinta do Gradil. Média de 30 folhas ± EPM.

3.2 - Superfície Foliar Exposta

Os valores das dimensões da sebe e da SFE são apresentados na Tabela 1

Tabela 1 - Dimensões da sebe e superfície foliar exposta.

		SFE (m ² .ha ⁻¹)	Altura Média da Sebe (cm)	Largura Média da Sebe (cm)
0.1.1	MEC	12 496	122	68
Quinta do Côro	MAN	10 945	116	42
Coro	Sig.	***	**	***
	MEC	12 936	134	55
Quinta do Gradil	MAN	11 648	123	44
Gradii	Sig.	***	***	***

Nota: Sig. - nível de significância: ns - não significativo ao nível de 0,05 pelo teste de F; * - significativo ao nível de 0,05; ** - significativo ao nível de 0,05; ** - significativo ao nível de 0,001. Em cada coluna os valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente ao nível de 0,05 pelo teste de Tukey HSD.

Verifica-se que a MEC provocou um aumento da SFE, acima de tudo, devido ao fato de não se ter orientado a vegetação com recurso à aramação.

Assim, o fato de parte dos sarmentos não se ter prendido aos arames, provocou um aumento tanto da altura como da largura média da sebe, sendo que o maior incremento foi registado na largura média da sebe o que fez deste o fator que mais contribuiu para diferenca na SFE.

3.3 – Rendimento e seus componentes

Na tabela 2 são apresentados os dados de rendimento e seus componentes para ambos os ensaios

Tabela 2 – Rendimento e seus componentes.

		Carga à Poda (olhos/cepa)	Nº Cachos	Peso/Cacho (g)	Nº Cachos Secos/Cepa	Rendimento (t/ha)
	MEC	51,4	68	78	10,1	23,2
	MAN	15,2	35	129	2,4	18,9
	Sig.	***	***	***	***	*
	BIOC	33,4	49	110	7,4	21,1
Quinta do	ESTR	34,1	53	98	5,3	21,2
ao Côro	ETAR	32,0	51	106	7,1	21,1
Coro	RSUC	32,9	54	108	4,6	22,5
	TEST	34,0	50	96	6,6	19,1
	Sig.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	Poda x M.O.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	MEC	34,6	45	111	-	19,2
	MAN	15,1	27	148	-	15,6
	Sig.	***	***	***		***
	BIOC	23,7	35	126	-	16,5
Quinta do	ESTR	24,3	37	142	-	19,6
go Gradil	ETAR	25,1	35	117	-	15,1
Graun	TEST	26,2	35	135	-	17,8
	RSUC	25,1	38	128	-	18,0
	Sig.	n.s.	n.s.	n.s.		n.s.
	Poda x M.O.	n.s.	n.s.	n.s.		n.s.

Nota: Sig. - nível de significância: ns - não significativo ao nível de 0,05 pelo teste de F; * - significativo ao nível de 0,05; ** - significativo ao nível de 0,01; *** - significativo ao nível de 0,001. Em cada coluna os valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente ao nível de 0,05 pelo teste de Tukey HSD.

Em qualquer dos ensaios, o número de cachos foi significativamente incrementado pela MEC, resultado da maior carga à poda. O maior número de cachos traduziu-se numa significativa redução do seu peso médio, resultado da auto-regulação da planta. No entanto, o maior número de cachos foi suficiente para que o rendimento tenha sido supe-

rior nas videiras podadas mecanicamente. Resultados similares foram encontrados no nosso país por Lopes *et al.* (2000), Castro *et al.* (2010) e Cruz *et al.* (2011). Na Quinta do Côro, associado ao *stress* hídrico e às elevadas temperaturas, ocorreram fenómenos de escaldão dos cachos, cuja taxa foi significativamente superior na MEC, em virtude da forma de distribuição da vegetação, que potencia de maior exposição dos cachos. Por outro lado, em nenhum dos locais se encontraram quaisquer diferenças nos parâmetros do rendimento entre as diferentes fontes de matéria orgânica, o que poderá ser explicado pelo ano anormalmente seco que se verificou (*vide* 3.1).

3.4 – Composição das uvas

Na tabela 3, observa-se que o peso médio do bago foi inferior nas videiras podadas mecanicamente, resultado este, similar ao obtido por Reynolds & Wardle (1993) e Clingeleffer *et al.* (2005).

Contrariamente ao observado por Intrieri *et al.* (2001) e Cruz *et al.* (2011), com excepção do pH, não foram encontradas diferenças nos parâmetros analíticos das uvas à vindima em qualquer dos ensaios.

Peso do TAP рΗ Ac. Total Fenóis Antoc. Int. Bago (%v/v) (g ac. Corante (mg/l) Totais (g) tart./1) MEC 1,25 14,7 3,26 4,83 971 89 33,9 MAN 15,5 3,35 4,50 1008 1,54 92 33,9 Sig. *** n.s. ** ns. n.s. n.s. n.s. BIOC 1,39 15,4 3,32 4,75 991 91 34,0 Ouinta ESTR 1,37 15,1 3,32 4,58 1068 94 35,7 do Côro **ETAR** 1,43 14,9 3,29 4,57 961 34,4 88 RSUC 1,41 15,1 3,30 4,58 1003 93 34,1 TEST 1,38 14,9 3,31 4,85 923 86 31,4 Sig. n.s. n.s. n.s. n.s. n.s. n.s. n.s. Poda x M.O. ns. n.s. ns. n.s. ns. n.s. n.s. 5,17 MEC 1,35 12.5 3,34 1571 61 20,3 MAN 12,5 3,44 5,06 1641 63 20,3 1,55 *** Sig. ns. rus. ns. ns. ns. BIOC 1,52 12,9 3,38 5,20 1579 63,98 21,1 Quinta ESTR 1,54 12,1 3,37 4,93 1517 57,32 17,9 ETAR 1,36 12,5 3,40 5,28 1755 66,73 22,8 Gradil TEST 1,44 12,2 3,40 5,03 1505 57,67 19,1 RSUC 1,42 12,8 3,38 5,13 1675 63,73 20,6 ns. ns. n.s. n.s. n.s. n.s. n.s. Poda x M.O. ns. ns. n.s. ns. n.s. n.s. ns.

Tabela 3 – Parâmetros analíticos dos bagos à vindima.

Nota: Sig. – nível de significância: ns – não significativo ao nível de 0,05 pelo teste de F; * – significativo ao nível de 0,05; ** – significativo ao nível de 0,01; *** – significativo ao nível de 0,001. Em cada coluna os valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente ao nível de 0,05 pelo teste de Tukey HSD.

3.5 – Vigor e expressão vegetativa

Na Tabela 4 são apresentados os dados do vigor e da expressão vegetativa, podendo observar-se que, tal como referido por Lopes et al. (2000) e Cruz *et al.* (2011), a MEC deu origem a um maior número de varas normais por cepa, a um menor número de ladrões e a um menor peso médio da vara. Por outro lado, a MEC, apesar de aumentar o número de varas, reduziu a expressão vegetativa, patente no peso de lenha de poda, tal como observado por Reynolds & Wardle (1993) e Naor *et al.* (2002). Este fato pode ter na sua origem dois fatores: 1) o maior *stress* hídrico verificado na MEC que limitou a atividade fotossintética e, consequentemente, a acumulação de reservas; 2) o maior número de cachos (*sinks*) na MEC que competiram pelos fotoassimilados produzidos.

Tabela 4 – Vigor e expressão vegetativa.

		Nº de Varas	Peso Lenha	Peso Médio	Nº de Ladrões/
		/Сера	/Cepa (g)	da Vara (g)	Сера
	MEC	30,7	734	23,3	0,85
	MAN	21,8	877	38,6	8,52
	Sig.	***	*	1/c 1/c 1/c	***
Quinta do Côro	811	29,2	5,25		
0010	ESTR	26,7	810	31,1	4,69
BIOC	ETAR	24,9	779	31,5	4,20
27,4	RSUC	26,4	834	31,2	4,79
	TEST	25,8	793	31,5	4,37
	Sig.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	Poda x M.O.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	MEC	21,8	611	28,1	
	MAN	16,5	738	45,3	
	Sig.	***	***	1/c 1/c 1/c	
	BIOC	19.3	674	36,50	
Quinta do	ESTR	19.9	679	35,40	
Gradil	ETAR	18,3	662	36,90	
	TEST	18,8	735	40,70	
	RSUC	19,5	623	34,10	
	Sig.	n.s.	n.s.	n.s.	
	Poda x M.O.	n.s.	n.s.	n.s.	

Nota: Sig. – nível de significância: ns – não significativo ao nível de 0,05 pelo teste de F; * – significativo ao nível de 0,05; ** – significativo ao nível de 0,01; *** – significativo ao nível de 0,001. Em cada coluna os valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente ao nível de 0,05 pelo teste de Tukey HSD.

4 – CONCLUSÕES

A MEC origina naturalmente uma maior carga à poda. O potencial hídrico foliar de base refletiu em qualquer dos ensaios uma condição de *stress* hídrico severo durante a maturação.

O rendimento da MEC foi significativamente superior, em ambos os ensaios, devido ao maior número de cachos por cepa, já que o peso unitário do cacho foi inferior. A MEC provocou o aumento no número de varas por cepa, mas reduziu o vigor e a expressão vegetativa. Os resultados sugerem a viabilidade da MEC, com redução de mão-de-obra, ganhos de rendimento e com elevada qualidade. No entanto, em anos de extrema secura, como foi 2012, pode agravar os problemas de *stress* hídrico, caso não haja rega.

Por outro lado, provavelmente devido ao ano atipicamente seco, não se verificou qualquer efeito em resultado da aplicação dos diferentes corretivos orgânicos.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi financiado pelo programa PRODER (Projecto PA 24071 – FERTIL-PODA), uma iniciativa do Ministério da Agricultura, Mar, Ambiente e Ordenamento do Território co-financiado pelo FEADER. Agradece-se às empresas que gentilmente cederam os corretivos orgânicos: TRATOLIXO, S.A. (RSUC); SIMTEJO, SA (Lamas de ETAR); TERRA AUSTRALIS, LDA. (Pó de Carvão).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMLINGER, F.; GOTZ, B.; DREHER, P.; GESZTI, J.; WEISSTEINER, C. (2003). Nitrogen in biowaste and yard waste compost: dynamics of mobilisation and availability—a review. European Journal of Soil Biology 39: 107–116
- CARBONNEAU, A. (1983b)- Conclusions generales du 1er Seminaire International sur la taille mecanique de la vigne tirees par les participants le mercredi 16 Novembre 1983. Compte Rendu Sem. Int. sur la taille mecanique de la vigne, CIGR, Montpellier, 227-236.
- CARBONNEAU, A., (1995). La surface foliaire exposée potentielle. Guide pour sa mesure. 8èmes Journées GESCO, Vairão, Portugal: 39-48.
- CASTRO, R.; CLARO, A.; RODRIGUES, A.; TEIXEIRA, A.; MACHADO, J.; PIOVENE, C.; CRUZ, A. (2010). Poda mecânica na vinha-efeitos no rendimento e na qualidade. 8º Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo, p. 167-176.
- CLINGELEFFER, P.R. (2000). Mechanization of wine and raisin production in Australian vineyards. Proceedings of the ASEV 50th anniversary annual meeting, Seattle, Washington
- CLINGELEFFER, P.R.; PETRIE, P.R.; ASHLEY, R.M. (2005). Suitability of minimal pruning and other low-input systems for warm and cool climate grape production. XIV International G.E.S.C.O. Viticulture Congress, Gheisenheim, Alemanha, pp. 3 9
- CRUZ, R.; PIOVENE, C; CLARO, A.; RODRIGUES, A.; CASTRO, R. (2011). Mechanical pruning on a vertical shoot positioning system in Dão Region. 17th International Symposium GiESCO 2011, Asti, 17th International Symposium GiESCO, Asti, p. 575-577.
- GATTI, M.; CIVARDI, S.; BERNIZZONI, F.; PONI, S. (2011). Long-Term Effects of Mechanical Winter Pruning on Growth, Yield, and Grape Composition of Barbera Grapevines. American Journal of Enology and Viticulture. 55(4)
- INTRIERI, C.; FILIPPETTI, I.; ALLEGRO, G.; VALENTINI, G.; PASTORE, C.; COLUCCI, E. (2011). The semi-minimal-pruned hedge: a novel mechanized grapevine training system. *American Journal of Enology and Viticulture* 62 (3): 312-318.
- INTRIERI, C.; PONI, S.; LIA, G.; CAMPO, M.G. (2001). Vine performance and leaf physiology of conventionally and minimally pruned Sangiovese grapevines. Vitis 40 (3). 123 130
- LEHMANN, J. (2007) Bio□energy in the black, Frontiers in Ecology and the Environment, vol 5, pp381–387
- LOPES, C.; MELICIAS, J.; ALEIXO, A.; LAUREANO, O.; CASTRO, R. (2000). Effects of mechanical hedge pruning on growth, yield and quality of Cabernet Sauvignon grapevines. Acta Horticulturae 526.
- MURISIER, F. & ZUFFEREY, V. (1997). Rapport feuille-fruit de la vigne et qualité du raisin. Revue Suisse Vitic. Hortic. 29 (6): 355-362.

- NAOR, A.; GAL, Y.; BRAVDO, B. (2002). Shoot and cluster thinning influence vegetative growth, fruit yiel, and wine quality of 'Sauvignon blan' grapevines. J. Amer. Soc. Hort. Science. 127 (4): 628-634.
- PALMA, L. DE; TARRICONE, L.; NOVELLO, V. (2010). Preliminary results of hedge mechanical pruning performed with Nero di Troia winegrape cultivar. *Progres Agricole et Viticole* 127: 40-46.
- REYNOLDS, A.G.; WARDLE, D.A. (1993). Yield component path analysis of Okanagan Riesling vines conventionally pruned or subjected to simulated mechanical pruning. American Journal of Enology and Viticulture. 44(2)
- TERRY, D. B.; KURTURAL, S. K. (2011). Achieving vine balance of Syrah with mechanical canopy management and regulated deficit irrigation. American Journal of Enology and Viticulture, 62(4): 426-437
- VARENNES, A. (2003). Produtividade dos Solos e Ambiente. Escolar Editora, Lisboa. 490pp
- WILLIAMS, L.E.; AYARS, J.E. (2005). Grapevine water use and the crop coefficient are linear functions of the shaded area measured beneath the canopy. Agricultural and Forest Meteorology, 132: 201–211

A DESFOLHA DA VINHA. CASOS DE ESTUDO NAS REGIÕES DO DÃO E BAIRRADA

Isabel ANDRADE⁽¹⁾; Vanda PEDROSO⁽²⁾; Cátia MELANDA⁽¹⁾; Leonor NOVAIS⁽³⁾; Sandra COELHO⁽¹⁾; Carlos LOPES⁽⁴⁾

RESUMO

O efeito da intensidade da desfolha sobre o crescimento vegetativo, a produção e a qualidade da uva foi estudado em diversas castas nas regiões do Dão e da Bairrada. A supressão das folhas basais alterou a densidade da sebe, provocando modificações no microclima térmico e luminoso com melhor exposição dos cachos e da temperatura dos bagos. Não se encontraram diferenças significativas no peso do bago, na acumulação de açúcares, no pH, na acidez total e nos ácidos orgânicos. Os vinhos provenientes das modalidades mais desfolhadas foram, em qualquer dos *terroirs*, os mais apreciados, enquanto que os da testemunha obtiveram sempre a nota mais baixa. A tonalidade, a intensidade de cor e o conteúdo de flavonóides aumentaram significativamente com a intensidade de desfolha. Este facto reflecte os teores mais elevados em antocianas e outros compostos fenólicos. A desfolha nestas castas parece ser uma intervenção em verde recomendável para a melhoria da qualidade.

PALAVRAS CHAVE: videira, Jaen, Fernão Pires, Touriga Nacional, desfolha, microclima dos cachos, produção

1 - INTRODUÇÃO

Uma das características da videira, quando considerado o conjunto das suas castas, é a de apresentar uma enorme diversidade no número de folhas produzidas, no arranjo espacial destas e na estrutura da vegetação que forma. A densidade de folhagem pode afectar o microclima envolvente na zona de frutificação, reflectindo-se quer no crescimento e desenvolvimento vegetativo, quer na produção e composição das uvas.

A diminuição da densidade foliar do coberto permite uma melhor exposição dos cachos à radiação solar o que, influenciando-lhes a temperatura, pode favorecer a qualidade das uvas e do vinho (Zoecklein *et al.*, 1992; Andrade, 2003; Bennett *et al.*, 2005, Raynal e Serrano, 2007, Papi *et al.*, 2011, Calhau, 2011). Uma das práticas de manipulação do coberto é a desfolha que integra o grupo das designadas intervenções em verde, tendo

como principais objectivos melhorar a sanidade e qualidade das uvas e permitir ganhos de tempo na vindima manual.

Investigações efectuadas por Andrade (2003), Rodrigues (2003), Main e Morris (2004), Candolfi-Vasconcelos *et al.* (2007), Sereno *et al.* (2007), Bavaresco *et al.* (2008), Poni *et al.* (2009), Diago *et al.* (2010) têm revelado que as repercussões da desfolha na produção e qualidade da uva estão muito dependentes da época e da intensidade com que é praticada, da situação ecológica e da casta.

O exposto acentua o interesse de se efectuarem estudos regionais que considerem as principais castas existentes nos seus encepamentos. Neste trabalho apresentam-se alguns resultados de ensaios de desfolha realizados nas regiões do Dão e Bairrada.

2 - CASOS DE ESTUDOS

2.1. Região do Dão

O ensaio que decorreu no Centro de Estudos Vitivínicolas do Dão, em Nelas, é constituído por videiras da casta Jaen enxertadas em 1103P, conduzidas em monoplano vertical ascendente e podadas em cordão Royat bilateral. As modalidades em estudo foram: T – ausência de desfolha; D3 – desfolha dos três nós basais consecutivos; D6 –desfolha dos seis nós basais consecutivos.

A desfolha foi praticada ao vingamento e após esta intervenção todos os lançamentos foram despontados de forma a ficarem com 18 nós.

A estimativa da área foliar foi efectuada com base na metodologia proposta por Lopes *et al.* (2004). A densidade de fluxo fotónico fotossinteticamente activo (PFD) foi determinada com uma sonda "Sunfleck Ceptometer" e a qualidade da luz foi avaliada através de um sensor vermelho/vermelho longínquo (660/730 nm) (R/FR). Os parâmetros analíticos do mosto foram determinados pelos métodos recomendados pelo OIV (1990). No que se refere à área foliar total por videira o tratamento D6 foi o que, ao início do pintor apresentou valores mais baixos e significativamente inferiores aos dos restantes tratamentos (Figura 1).

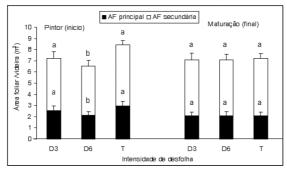


Figura 1 – Efeito da intensidade de desfolha, na área foliar principal e secundária por videira medidas ao pintor (início) e à maturação (final). Os valores representam a média ± erro padrão de 18 sarmentos de vigor médio por tratamento. Barras com letras diferentes indicam diferenças significativas ao nível de 0.05 pelo teste da MDS. AF = área foliar; D3 – eliminação das folhas principais dos 3 nós basais; D6 – eliminação das folhas principais dos 6 nós basais e T – testemunha não desfolhada. Fonte: Andrade (2003).

As diferenças observadas entre tratamentos devem-se às diferenças significativas na área foliar principal e na área foliar secundária. Entre o início do pintor e o final da maturação as videiras T apresentaram uma diminuição da área foliar total devido à senescência das folhas principais basais. Em todos os tratamentos a área foliar secundária representou cerca de 75 % da área foliar total.

Comparando os tratamentos T (100 % de folhas remanescentes), D3 (83 % de folhas remanescentes) e D6 (67 % de folhas remanescentes) verificou-se que as videiras testemunha aos 66 dias após floração (25% pintor) já tinham perdido 18 % da área foliar principal (Figura 2). À vindima as videiras D6, D3 e T apresentavam respectivamente 92%, 73% e 67% do número de folhas remanescentes após desfolha, revelando uma taxa de senescência foliar mais elevada nas videiras não desfolhadas. Por outro lado, a modalidade D6 permaneceu com um maior número de folhas verdes até à vindima.

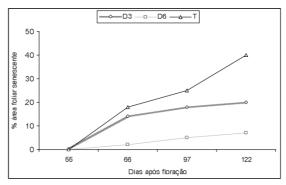


Figura 2 – Efeito da intensidade de desfolha, na evolução da percentagem de área foliar senescente. Os valores representam a média de 18 sarmentos de vigor médio por tratamento. D3 – eliminação das folhas principais dos 3 nós basais; D6 – eliminação das folhas principais dos 6 nós basais e T – testemunha não desfolhada. Fonte: Andrade (2003).

A PFD recebida na zona dos cachos foi significativamente inferior nas videiras testemunha não desfolhadas quando comparado com as videiras desfolhadas, independentemente da intensidade de desfolha. Verifica-se que há um aumento significativo da % PFD ambiente e da razão R/FR com o incremento da intensidade de desfolha, no entanto, esse efeito só é significativo quando se retiram as netas (Figura 3).

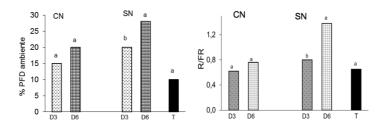


Figura 3 - Efeito da intensidade de desfolha na percentagem da densidade de fluxo fotónico fotossinteticamente activo ambiente (% PFD) interceptado no interior da sebe, ao nível dos cachos (a) e na razão vermelho/vermelho longínquo (R/FR - 660/730 nm) interceptada pelos cachos (b). D3 e D6 - eliminação das folhas principais dos 3 e 6 nós basais respectivamente. As letras de topo das colunas separam as médias pelo teste LSD ao nível de 0.05. Fonte: Andrade (2003).

A desfolha não influenciou significativamente quer o rendimento quer o álcool provável e a acidez total do mosto à vindima (Quadro 1).

Quadro 1 - Efeito da desfolha no rendimento e na composição do mosto à vindima. T – testemunha não desfolhada; D3 e D6 – eliminação das folhas principais dos 3 e 6 nós basais respectivamente; CN – presença de netas; SN – ausência de netas. Fonte: Andrade (2003).

Intensidade desfolha	Peso cacho (g)	Rendimento (kg/cepa)	Álcool Provável (%v/v)	Acidez Total (g/L ác. Tart)	Antocianas (mg/L)	Fenóis (IFC)	Taninos (g/L)
Ť	122,6	2,0	11,2	5,8	815b	33.0b	6.5b
D3	128,8	2,1	11,3	5,7	922ab	39.3ab	8.0a
D6	126,5	1,8	11,3	5,6	966a	44.5a	8.6a
Sig.	ns	ns	ns	ns			
CN	119,7	1,9	11,6	5,7	855	35,8	7,6
SN	132,2	2,0	10,8	5,7	902	42,1	7,8
Sig.	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Nota: IFC – Índice de Folin Ciocalteu; Sig. – nível de significância; ns – não significativo; * significativo ao nível de 0.05, pelo teste de Fisher. Em cada coluna, os valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente ao nível de 0.05 pelo teste LSD.

Na análise sensorial verificou-se que os vinhos provenientes da modalidade D6SN alcançaram uma nota final mais elevada bem como melhor pontuação quer na tonalidade quer na intensidade de cor, reflectindo o efeito favorável da desfolha na acumulação de fenóis e de antocianas totais (Quadro 2).

Quadro 2 - Efeito da desfolha na análise sensorial dos vinhos. Int- Intensidade; Ton - tonalidade; Har- Harmonia; D3CN e D6CN - eliminação das folhas principais dos 3 e 6 nós basais e presença de netas; D3SN e D6SN - eliminação das folhas principais e das netas dos 3 e 6 nós basais, respectivamente; T - Testemunha não desfolhada. Fonte: Andrade (2003).

Modalidade	C	Cor Olfacto				G	osto		Nota
Modalidade	Int.	Ton.	<u>Int</u> .	Har.	Int.	Har.	Corpo	Final	final
D3CN	3.6b	3.9b	5,8	5,6	5.4b	5,4	5.5ab	3,5	67bc
D6CN	3.6b	4.0ab	5,9	5,6	5.6ab	5,4	5.8a	3,6	70abc
D3SN	3.9ab	3.9b	5,9	5,7	5.7ab	5,5	5.5ab	3,6	68abc
D6SN	4.1a	4.3a	5,9	5,7	5.9a	5,4	5.9a	3,7	71a
Т	3.5b	3.9b	5,8	5,6	5.3b	5,4	5.3b	3,4	66c
Sig.	*	*	ns	ns	*	ns	*	ns	*

Nota: Sig. - nível de significância; ns - não significativo;

Em cada coluna, os valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente ao nível de 0.05 pelo teste LSD.

^{*} significativo ao nível de 0.05, pelo teste de Fisher.

2.2. Região da Bairrada

2.2.1. Fernão Pires

Num ensaio instalado em 2008 numa vinha da Quinta de Pedralvites, Sogrape Vinhos S.A., em Anadia, região da Bairrada, estudou-se a influência de quatro intensidades de desfolha na produção e qualidade do mosto na casta Fernão Pires. As modalidades ensaiadas foram as seguintes: T- não desfolhada, D0- desfolha operacional — eliminação de algumas folhas na zona dos cachos, do lado Este da videira (praticada actualmente no local), D1- eliminação das folhas basais até ao 1º cacho, incluindo as folhas opostas ao cacho, bem como as netas, D2- eliminação das folhas basais até ao 2º cacho, incluindo as folhas opostas ao cacho, bem como as netas

Utilizou-se o sensor óptico Multiplex para determinar os índices de flavonóides (FLAV), de clorofila (SFR R) e os níveis de azoto (NBI R) no bago (Cerovic *et al.*, 2008).

Os principais resultados indicam que a desfolha alterou significativamente a estrutura do coberto, provocando a redução do número de camadas de folhas, o aumento da porosidade e da exposição dos cachos e, consequentemente, uma alteração significativa do seu microclima luminoso e térmico. Apesar da desfolha não ter induzido alterações significativas na produção, ao nível das características do mosto à vindima, as modalidades desfolhadas originaram um aumento significativo nos teores de flavonóides (Quadro 3).

Quadro 3 - Efeito da intensidade de desfolha na produção e qualidade do mosto à vindima na casta Fernão Pires. T – testemunha não desfolhada; D0 – desfolha operacional (desfolha apenas na zona de frutificação); D1 – desfolha até ao 1° cacho; D2 - desfolha até ao 2° cacho. SFR_R – índice de clorofila, NBI R - níveis de azoto, FLAV - índices de flavonóides. (Fonte: Melanda, 2010).

	T	D0	D1	D2	Sig.
Produção (Kg/cepa)	2,42	2,83	3,05	3,00	ns
Nº cachos/cepa	17,1	14,4	15,1	14,7	ns
Peso médio do cacho (g)	153	216	203	202	ns
Alcool provável (%v/v)	12,9	13,3	13,2	13,6	ns
Acidez total (g ác. tart/L)	3,6	3,0	3,7	3,5	ns
pH	3,40	3,33	3,35	3,33	ns
SFR_R	2,39	2,33	2,26	2,31	ns
NBI_R	0,27a	0,17b	0,14b	0,13b	*
FLAV	0,98b	1,22a	1,26a	1,31a	*

Nota: Sig. – nível de significância, ns – não significativo pelo teste de Fisher, * significativo ao nível de 0.05, pelo teste de Fisher. Em cada coluna, os valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente ao nível de 0.05 pelo teste LSD.

A análise sensorial baseada numa escala com notas entre zero e cinco e classificação final do vinho entre zero e dez, revelou que os vinhos provenientes da modalidade D2 foram os melhores pontuados (Quadro 4).

Quadro 4 - Efeito da intensidade de desfolha nas características organolépticas dos vinhos, casta Fernão Pires. T - testemunha não desfolhada; D0 - desfolha operacional (desfolha apenas na zona de frutificação); D1 - desfolha até ao 1º cacho; D2 - desfolha até ao 2º cacho (Fonte: Melanda, 2010).

Madalidada	Aron	nas	S	Sensações Gustativas					
Modalidade	Intensidade	Qualidade	Corpo	Adstringência	Equilíbrio	Final			
Ţ.	2,58b	2,67b	2,92	1,25	3,33	6,42b			
DO	2,58b	3,17a	2,92	1,33	3,33	6,92ab			
D1	2,58b	2,92ab	2,50	1,83	2,67	6,9ab			
D2	3,73a	3,17a	2,67	1,5	3,17	8,08a			
Sig.	*	*	n.s.	n.s.	n.s.	*			

Nota: Sig. – nível de significância; ns – não significativo pelo teste de Fisher, * significativo ao nível de 0.05, pelo teste de Fisher. Em cada coluna, os valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente ao nível de 0.05 pelo teste LSD.

2.2.2. Touriga Nacional

Num ensaio instalado em 2012, em Cantanhede, Região da Bairrada estudou-se o efeito de três intensidades de desfolha (T- testemunha não desfolhada; I1- Eliminação de 3 folhas na zona basal do lançamento; I2- Eliminação de 5 folhas na zona basal do lançamento) na densidade da sebe, produção e qualidade da casta Touriga Nacional. A densidade da folhagem do coberto foi avaliada através do método *Point Quadrat*, proposto por Smart e Robinson (1991). A caracterização analítica do mosto foi efectuada no Winescan FT 120.

O tratamento I2 conduziu a uma percentagem de folhas interiores muito reduzida comparativamente aos dos demais tratamentos e a um resultado inverso no que respeita à percentagem de cachos expostos (Figura 3) para além de ter proporcionado uma menor incidência da *Botrytis cinerea* Pers.

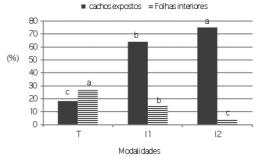


Figura 3 - Efeito da intensidade de desfolha na percentagem de cachos expostos e de folhas interiores na casta Touriga Nacional. T- testemunha não desfolhada; I1- Eliminação de 3 folhas na zona basal do lançamento; I2- Eliminação de 5 folhas na zona basal do lançamento. As letras de topo das colunas separam as médias pelo teste LSD ao nível de 0.05. Fonte: Coelho (2012).

O tratamento mais desfolhado apesar de ter provocado alterações significativas no rendimento, mostrou que as videiras não estavam limitadas pela *source*, exibindo uma boa relação SFE/produção para garantir um adequado crescimento do bago, uma boa acumulação de açúcares e melhores teores em antocianas e polifenóis (Quadro 5).

Quadro 5 - Efeito da desfolha sobre o rendimento, as características do mosto e das películas dos bagos à vindima. T- testemunha não desfolhada; I1- Eliminação de 3 folhas na zona basal do lançamento; I2- Eliminação de 5 folhas na zona basal do lançamento; Intens – intensidade

+								
	Intensidade desfolha	Peso cacho (g)	Rendimento (kg/cepa)	Álcool Provável (%v/v)	Acidez Total (g/L ác. Tart)	Antocianas (mg/L)	Intens. de cor	SFE/Produção m2/kg
	Т	152,6a	2,39a	12,1	3,33	904b	10,1 b	0,94b
	I1	149,8ab	1,91ab	12,1	3,34	965ab	12,4a	1,43ab
	12	129,32b	1,56b	12,4	3,32	1078a	12,9a	1,54a
	Sig.	*	*	ns	ns		*	*

Nota: Sig. – nível de significância; ns – não significativo;
* significativo ao nível de 0.05, pelo teste de Fisher. Em cada coluna, os valores seguidos
da mesma letra não diferem significativamente ao nível de 0.05 pelo teste LSD.

4 - CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que a desfolha induziu um efeito positivo no comportamento agronómico das castas em estudo. Ao reduzir a densidade do coberto vegetal melhorou o arejamento na zona de frutificação reflectindo-se favoravelmente quer na diminuição da presença de *Botrytis cinerea* Pers, quer no microclima luminoso dos cachos, permitindo um aumento dos teores em antocianas e fenóis na película dos bagos. Os vinhos provenientes das modalidades mais intensamente desfolhadas foram, em qualquer das castas, os mais apreciados pelos provadores, enquanto que os da testemunha não desfolhada obtiveram sempre a nota mais baixa. Estes dados permitem, também, afirmar que os efeitos favoráveis da desfolha só são conseguidos quando se retiram em simultâneo as netas e as folhas principais. As vantagens obtidas com a desfolha permitem-nos preconizar a sua aplicação nestas regiões e noutras do País.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, I. (2003). Efeito da intensidade da desfolha da videira (Vitis vinifera L.) na fotossíntese, na produção e na qualidade. Dissertação de Doutoramento. Instituto Superior de Agronomia. 216 pp.
- BAVARESCO, L.; GATTI, M.; PEZZUTTO, S.; FREGONI, M.; MATTIVI, F. (2008). Effects of leaf removal on grape yield, berry composition and stilbene concentration. *Am. J. Enol. Vitic.*, 59:3:292-298.
- BENNETT, J.; JARVIS, P.; CREASY, G.; TROUGHT, M. (2005). Influence of defoliation on overwintering carbohydrate reserves, return bloom, and yield of mature Chardonnay grapevines. American Society for Enology and Viticulture, 56(4):386-393.
- CANDOLFI-VASCONCELOS, M.; BRASFER, E.; REYNOLDS, A. (2007). Effects of crop level on yield components, fruit composition, wood carbohydrate reserves and wine quality of Pinot Noir. GESCO, *Compte Rendu* n°15:2:830-840, Croatia.
- CEROVIC, Z.; MOISE, N.; AGATI, G.; LATOUCHE, G.; BEM GHOZLEN, N.; MEYER, S. (2008). New portable optical sensor the assessment of winegrape phenolic maturity based on berry fluorescence. Journal of Food Composition and Analysis, 21:650-654.
- COELHO, S. (2012). Efeito da intensidade da desfolha na qualidade do mosto na casta Touriga Nacional. Relatório do Estágio de Fim de Curso de Licenciatura em Engenharia Agro-Pecuária, IPC/ESAC, Coimbra.
- DIAGO, M.; VILANOVA, M.; TARDAGUILA, J. (2010). Effects of timing of manual and mechanical early defoliation on the aroma of *Vitis vinifera* L. Tempranillo wine. Am. J. Enol. Vitic., 61(3):382-391.
- LOPES, C.; ANDRADE, I.; PEDROSA, V.; MARTINS, S. (2004). Modelos empíricos para a estimativa da área foliar da videira na casta Jaen, Ciência Téc. Vitiv.19 (2), 61-75.

- MAIN, G., MORRIS, J. (2004). Leaf-Removal effects on Cynthiana yield, juice composition and wine composition. *Am. J. Enol. Vitic.*, 55:2:147-152.
- MELANDA, C. (2010) Produção e qualidade nas cvs Maria Gomes e Arinto sujeita a diferentes intensidades de desfolha. Instituto Politécnico de Coimbra. Escola Superior Agrária de Coimbra, 2010. Dissertação de Mestrado. 60pp.
- PAPI, D.; BALDI, M.; LEPRINI, M.; SPICUZZA, R.; STORCH, P. (2011). Effects of defoliation and cluster thinning on phenolic compounds and antioxidant activity of Sangiovese grapes. 17 th International GiESCO Symposium. Asti- Alba, Italy, 435-438.
- PONI, S.; CASALINI, L.; BERNIZZONI, F.; CIVARDI, S.; INTRIERI, C. (2006). Effects of prebloom leaf removal on growth of berry tissues and must composition in two *red Vitis vinifera* L. cultivars. Australian Journal of Grape and Wine Research, 15(2):185-193.
- RAYNAL, M.; SERRANO, E. (2007). Le point sur l'effeuillage avant un nouveau banc d'essai. Lettre actualités, n°28. IFVV.
- RODRIGUES, S. (2003). Influência da desfolha na ecofisiologia, produção e qualidade do mosto na casta 'Cabernet Sauvignon'. Relatório do Trabalho de Fim de Curso de Eng^a Agronómica, ISA/UTL, Lisboa.
- SERENO, P.; RAMOS, A.; LOPES, C. (2007). Influência da intensidade de desfolha no microclima dos cachos, na produção e qualidade do mosto da casta Trincadeira. 7º Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo. Évora, 211-217.
- ZOECKLEIN, B.; WOLF, T.; DUNCAN, N.; JUDGE, J.; COOK, M. (1992). Effect of fruit zone leaf removal on yield, fruit composition and fruit rot incidence of Chardonnay and White Riesling (*Vitis vinifera* L.) grapes. Am. J. Enol. Vitic., 43, 139-148.

PRODUCTIVE, VEGETATIVE AND QUALITATIVE PER-FORMANCE OF YUSTE PRUNING SYSTEM ON cv. VERDEJO DURING A 3-YEARS PERIOD IN THE DUERO RIVER VALLEY

J. YUSTE¹; S. LÓPEZ-MIRANDA; R. YUSTE

ABSTRACT

Pruning is an operation of great operational, qualitative and economic importance which may allow achieving the level of production and quality desired. The Yuste system, of mixed pruning, based on the use of spurs and canes on a permanent cordon, is proposed as an alternative to short pruning as Royat cordon to moderately increase the grape yield, instead of the pruning type called Guyot, thank to the ease of pre-pruning mechanization, in varieties of reduced fertility.

The experimental trial has been carried out with the white variety Verdejo, over the period 2005-2007, in Valladolid (Spain), in the centre of the Duero river valley. The vines, grafted onto SO4, and planted in 1992, have been trellis trained, with distances of 2.8 x 1.4 m.

The results have demonstrated the ability of Yuste system to increase moderately the grape production without causing adverse effects notoriously unfavourable for vine development or for grape quality, mostly due to the increase in both the number of shoots and its fertility, with respect to the Royat cordon. The increase of pruning bud load of the system Yuste has caused a slight delay in the accumulation of sugars in berries and some tendency to reduce total acidity without these slight differences prove statistically significant.

Keywords: acidity, cluster, shoot, sugar, yield.

1. INTRODUCTION

The manual pruning of vines, although it can be facilitated by mechanical pre-pruning operations, is a major cultivation activity of greater operational, economic and qualitative importance (Jackson 1998). The production of a proper amount of grapes with a desired level of quality is a primary objective of pruning (Tassie and Freeman 1992), which must be achieved through implementing simple and low cost pruning strategies (Lopez-Miranda *et al.* 2004).

Ctra. Burgos-Portugal km. 119, 47071 Valladolid. España. E-mail: yusbomje@itacyl.es

¹ Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACyL)

Cane pruning is considered essential for varieties with reduced fertility in their basal buds (Kasimatis *et al.* 1985), in which case it is usually applied the pruning type called Guyot. Cane pruning allows use the productive potential of the most fertile shoot nodes (Ferrer and Garcia 1992, Lopez-Miranda 2002), but consumes more time, between 30% and 40%, and requires more skill, and its feasibility mechanical pre-pruning is much smaller than spur pruning (May *et al.* 1982).

The higher productivity of long pruning systems has not been shown in some cases (May *et al.* 1982, Lopez-Miranda 2002), so the higher cost of long pruning has led to wide-spread spur pruning for any variety in some producing areas (Kasimatis *et al.* 1985). The increase of pruning load by increasing the number of buds of each pruning element can also allow the yield increase (Reynolds *et al.* 1994), with the advantage that it is not necessary to change the system pruning already established in the vineyard, although it should be advisable to control the possible reduction of must quality (Miller and Howell 1998), in case of difficulty for grape ripening (Dokoozlian and Kliewer 1995).

In order to analyze the effects of increased pruning load through a mixed system of pruning, with medium-length canes in the white variety Verdejo, considered of medium-low fertility (Lopez-Miranda 2002), conducted in permanent cordons, it has been applied the Yuste pruning system against Royat cordon pruning, to assess the expected yield increase and the maturation of grapes to produce wine of high quality (Yuste 2000), in the Duero river valley, in Valladolid (Spain).

2. MATERIAL AND METHODS

An experimental trial has been developed to analyze the agronomic response of the white variety Verdejo (*Vitis vinifera* L), when subjected to different types of pruning in a trellis training system with permanent cordons. It has considered the application of Yuste system, of mixed pruning, as an alternative to the classical type of short pruning called Royat cordon.

2.1. Description of Yuste system, of mixed pruning

The Yuste system, of mixed pruning, consists of retaining at pruning operation several spurs and a cane in each arm on a permanent cordon structure, wherein each fruit position

presents a single element, spur or cane, and wherein the cane each year is moved from one position to the next, which would have been occupied by a spur during the previous growing season (figures 1 and 2), in order to avoid that the possible lack of sprouting in the basal nodes can be repeated in one fruit position continuously.

The canes retained after winter pruning should be of medium length, of 6 nodes, so that the lack of sprouting in the basal area of the cane is not very marked, and kept in vertical position without applying any operation to bend. The canes must be placed in the same position of the cordon in all plants along the row, in order to avoid any crowding of vegetation. Once the multi-annual period of canes displacement along any position of the cordon has been completed, the canes will again be positioned in the starting position and the procedure thus continues successively along the years.

2.2. Scheme of annual application of Yuste system

In the first year of implementation of the pruning, the cane was placed at the north end of each arm. Along the row, the canes were placed in the same position on each vine, so between canes were always 3 spurs occupying all 3 fruit positions. The canes were tied to a fixed wire located 30 cm above the arm wire (figure 1). In the second year of implementation of the pruning, the cane was moved into the adjacent fruit position, in which there was a spur during the previous growing season. In the position where the cane was located in the first year was left a two-buds spur. In subsequent years, the canes are moved in the same direction at adjacent positions, until the fifth year of implementation of the pruning, in which the canes would be placed in the position they occupied the first year to start another cycle of displacement (figure 2).

2.3. Location

The trial was carried out at the Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León, in Valladolid (Spain), in the central area of the Duero river valley, during the years 2005-2007. The plant material used was cv. Verdejo grafted on SO4, planted in 1992, with vine distances of 2.8 x 1.4 m (2,550 plants/ha) and north-south row orientation. Vines were trained in bilateral cordon and grown under rainfed conditions. Annual precipitations in the study period were 301, 454 and 550 mm, in 2005, 2006 and 2007 respectively.

2.4. Experimental treatments

Three experimental treatments were applied: bilateral Royat cordon (R), Yuste system Long alternative (YL) and Yuste system Mixed alternative (YM). The Royat cordon treatment was pruned in winter to 4 spurs of 2 buds per arm, which computed a total of 16 buds per plant. The treatment of Yuste system Mixed alternative consisted of a bilateral cordon pruned in winter to 3 spurs of 2 buds and 1 cane of 6 buds per arm, which computed a total of 24 buds per plant. The treatment of Yuste system Long alternative consisted of a bilateral cordon pre-pruned in winter to 3 spurs of 4 buds and 1 cane of 6 buds per arm, computing for a total of 36 buds per plant temporarily. Such treatment was finally pruned in spring to 3 spurs of 2 buds and 1 cane of 6 buds per arm, computing for a total of 24 buds per plant, the same quantity as in the case of Yuste Mixed alternative. The trial was designed in randomized blocks with 6 replications, having 4 control vines in each experimental plot.

2.5. Experimental determinations

At harvest, grape production and number of clusters, from both spur shoots and cane shoots and shoots of uncounted buds were measured in each individual vine of 6 replications, as well as the berry weight was determined through the sampling of 100 berries by repetition. From veraison to harvest periodic sampling was carried out to determine the evolution of the basic components of must during the ripening process: concentration of sugars, total acidity and pH of must. In winter pruning wood weight and number of shoots, from both spurs, canes and uncounted buds, were measured in each individual vine of all 6 replications.

3. RESULTS

3.1. Grape production

In all the three years of comparison of pruning systems, it has been observed that the Yuste system, in the whole of both variants applied, presented an average increase in grape yield by 58% over the Royat cordon (table 1). The differences were statistically significant every year, ranging from 36% in 2007 to 81% in 2006. This increase is greater than the increase of the number of buds retained at pruning in the Yuste system respect

to the Royat cordon, which was 50%. This result confirms that the increase in the load of the Yuste pruning system, based on increasing the number of buds per plant by using canes of medium length, allows to compensate the decrease in individual bud productivity with the higher fertility of the buds placed in the cane.

Table 1. Grape production: grape yield (kg/vine), number of clusters per vine, cluster weight (g) and berry weight (g), in 2005, 2006 and 2007, of treatments Royat, Yuste Long and Yuste Mixed. Level of statistical significance (Sig.): ns, not significant; *, p <0.05; ** p <0.01.

	Yi	eld (kg/vi	ne)	Cl	usters / v	ine	Clus	ter weigh	t (g)	Ber	ry weight	(g)
Treatment	2005	2006	2007	2005	2006	2007	2005	2006	2007	2005	2006	2007
Royat	3,32°	3,22°	4,55b	22,6b	21,1°	29,0°	148	151	156	1,74	1,75	1,91
Yuste L	4,74 ^b	5,22b	5,82ª	33,3ª	29,5b	37,0ь	144	175	158	1,68	1,69	1,92
Yuste M	5,78ª	6,49ª	6,61ª	32,7ª	33,0ª	39,7ª	175	192	165	1,74	1,76	2,02
Sig.	**	**	*	**	**	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns

It was also noted that some years (2005 and 2006) there were differences between the two variants of Yuste system applied in favour of the variant "mixed", with an average yield increase of 19% compared to the variant "long".

The yield component that has contributed largely to the increase in grape production has been the number of clusters per vine, which was clearly superior in Yuste system (table 1), with differences that are statistically significant and have produced 42% of increase. The larger number of clusters has been a consequence of the presence of a greater number of shoots per vine, and that the average shoot potential fertility has not been altered substantially by increased vegetative competition, contrary to what was observed in other studies (Murisier and Ziegler 1991).

Furthermore, the cluster weight has hardly been modified by changing pruning system, having not found significant differences in any year (table 1), although overall the cluster weight showed an average increase of 11% in the system Yuste regarding to Royat cordon. This result is different from that observed by some authors (López-Miranda 2002) when tested load increases through pruning buds of similar fertility. The berry weight showed no significant differences or clear trend between the pruning treatments applied, with values between 1.68 g and 2.02 g (table 1).

The fertility, expressed through the production of grapes per shoot, has increased by 22% in the Yuste system in the whole of years, ranging between 146 g and 244 g for

Royat cordon and Yuste system respectively (table 2). Thus, the Yuste system has increased pruning bud load without compromising productivity of shoots, since has not only increased the number of buds per plant, but also the presence of buds of higher rang and therefore of higher fertility, in a different sense than that seen in the work of Lopez-Miranda (2002) with the same variety.

Vegetative growth

The modification of pruning load through the application of treatments established altered vegetative growth, so that the pruning wood weight was 11% higher in the Royat cordon than in the Yuste system, although differences did not get enough level to be statistically significant in the individual analysis of each year (table 2). This result agrees with the results reported by Reynolds *et al.* (1994) and Lopez-Miranda (2002), who observed that increasing the load of pruning was accompanied by a decrease of pruning wood weight (table 1).

Table 2. Vegetative growth: pruning wood weight (kg/vine), number of shoots per vine, shoot weight (g) and Ravaz index, in 2005, 2006 and 2007, of treatments Royat, Yuste Long and Yuste Mixed. Level of statistical significance (Sig.): ns, not significant; *, p <0.05; ** p <0.01.

	Pruning w	ood weigh	t (kg/vine)	Sì	noots / vi	ne	Sho	ot weigh	t (g)	R	avaz inde	ex
Treatment	2005	2006	2007	2005	2006	2007	2005	2006	2007	2005	2006	2007
Royat	1,36	1,40	1,69	22,8 ^b	17,6 ^b	23,8°	59,8	81,9ª	69,1ª	146 ^b	183 ^b	193
Yuste L	1,15	1,25	1,51	26,1ª	23,7a	33,4ª	44,2	52,1ª	46,2b	166 ^b	217ª	188
Yuste M	1,29	1,29	1,51	25,3ª	23,6ª	30,9b	50,9	53,9ª	48,4 ^b	224ª	272ª	198
Sig.	ns	ns	ns	**	**	非非	ns	*	**	**	*	ns

The total number of shoots developed by the vine has logically been significantly higher in the Yuste system than in the Royat cordon (table 2), with an average increase of 27%, which is lower than the 50% increase of the pruning bud load, due to the further development of watersprouts in the Royat cordon, despite the sucking operation and the green pruning load adjustment made every year during the second half of May.

Contrary to the trend observed in the number of shoots, the shoot weight has shown a significant increase in the Royat cordon, as a consequence of its lower pruning bud load, so that it has represented a 42% in the whole of all three years of study, varying between

47 g and 82 g (table 2). Pedroso *et al.* (1998), Yuste *et al.* (2001) and Lopez-Miranda (2002) also found similar results. The reduction of pruning wood weight shows that the overall production capacity of the tested vineyard is being used in full and that there is a redistribution of plant photoassimilates in favour of clusters.

Ravaz index has shown a clear shift of the production-vegetation balance toward grapes production through the Yuste system, from a minimum value of 2.65 in Royat cordon to a maximum value of 4.72 in the Yuste system, with annual statistically significant differences (table 3).

Composition of must

The ripening of grapes have shown a slight delay in terms of concentration of sugars in the must, by increasing the bud load with the Yuste pruning system, so that at harvest date the Royat cordon showed slightly higher values than Yuste system, which only resulted in significant differences in 2007 (table 3). These differences did not exceed 1° brix value in the whole of all the years, despite remarkable differences in grape yield resulting from the distribution of photoassimilates to the clusters as major sink in the Yuste system.

Table 3. Composition of must: total soluble solids (°brix), total acidity (g.L-¹ ac. tart.), pH of must; and **Ravaz index**, in 2005, 2006 and 2007, of treatments Royat, Yuste Long and Yuste Mixed. Level of statistical significance (Sig.): ns, not significant; *, p <0.05; ** p <0.01.

	Total so	luble solid	ls (°brix)	Total acid	dity (g.L	ac. tart.)		pН		R	avaz inde	ex
Tratamiento	2005	2006	2007	2005	2006	2007	2005	2006	2007	2005	2006	2007
Royat	22,4	23,4	23,4ª	5,47	8,41ª	7,00	3,26 ^b	3,26	3,25	2,68b	2,65°	3,08
Yuste L	22,0	22,8	22,7ь	5,30	7,20 ^b	6,55	3,37ª	3,29	3,25	4,65ª	4,17 ^b	3,93
Yuste M	21,2	22,3	22,0°	5,68	8,08ª	6,65	3,25b	3,27	3,26	4,54°	5,28a	4,11
Sig.	ns	ns	*	ns	**	ns	**	ns	ns	**	**	ns

Titratable acidity of must have shown some favourable trend to Royat cordon in the whole of all the years, with statistically significant differences in 2006, having ranged from 5.49 g/L to 8.41 g/L as extreme values (table 3). These differences between treatments were probably due to reasons of reducing the concentration in grapes as a consequence of increased yield provided by the Yuste system with respect to the Royat cordon. The pH of must, wine stability indicator, showed no differences between the pruning

treatments applied or a clear trend between them, without any statistically significant difference detected (table 3). The variation of pH values has been very limited, having varied between 3.25 and 3.31 for the whole of all the years, taking into account the Royat cordon and both variants of the Yuste system.

4. CONCLUSIONS

The application of Yuste pruning system in permanent cordon, through a 50% increase of pruning bud load with respect to the Royat cordon, has shown its ability to remarkably increase the production of grapes in cv. Verdejo, a variety of moderately limited fertility, without causing adverse effects notoriously unfavourable for vine development or for grape quality.

The yield increase has been largely due to both the increased number of shoots and its fertility, which has resulted in an increased number of clusters per vine in the Yuste system with respect to the Royat cordon. The cluster weight has been slightly favoured by the use of buds of higher rang in the Yuste system, but the differences were not statistically significant. The berry weight has not shown differences neither a clear trend between the pruning types studied.

The modification of pruning bud load through the treatments applied altered the vegetative growth, so that the pruning wood weight was 11% higher in the Royat cordon than in the Yuste system, because of 42% increase of shoot weight in the Royat cordon in comparison with the Yuste system, despite the 27% increase in the number of shoots in Yuste system with respect to the Royat cordon.

In general, the increase of pruning bud load through the pruning Yuste system has caused a slight delay in the accumulation of sugars and a slight tendency to reduce the titratable acidity, while the pH of must has shown no effect derived from pruning treatments, without the differences in all parameters of grape composition generally prove statistically significant.

Therefore, these results should be considered in a global assessment of advantages and disadvantages of each type of pruning, including operational aspects of simplicity and mechanization as well as economic and environmental issues, taking into account the objectives of production and mechanization required to each alternative of pruning.

5. BIBLIOGRAPHY

- Dokoozlian N.K., Kliewer W.M. 1995. The light environment within grapevine canopies. II. Influence of leaf area density on fruit zone light environment and some canopy assessment parameters. American Journal of Enology and Viticulture 46: 219-226.
- Ferrer M., García L. 1992. Studio sulla fertilità delle gemme di vite (*Vitis vinifera* L.) per la determinazione del sistema di potatura. IV Simposio Internazionale di Fisiologia della Vite. Torino (Italia). p. 129-132.
- Jackson D.I. 1998. Monographs in Cool Climate Viticulture 1: pruning and training. Lincoln University Press, Canterbury (New Zealand). 69 p.
- Kasimatis A.N., Bowers K.W., Vilas E.P. 1985. Conversion of cane-pruned Cabernet sauvignon vines to bilateral cordon training and a comparation of cane and spur pruning. American Journal of Enology and Viticulture 36: 240-244.
- López-Miranda S. 2002. Componentes del rendimiento en cv. Verdejo (Vitis vinifera L.), sus relaciones y su aplicación al manejo de la poda. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. 282 p.
- López-Miranda S., Yuste J., Lissarrague J.R. 2004. Effects of the bearing unit, spur or cane, on the yield components and bud productivity. Vitis 43: 47-48.
- May P., Clingeleffer P.R., Brien C.J. 1982. Pruning of Sultana vines to long spurs. American Journal of Enology and Viticulture 33: 214-221.
- Miller D.P., Howell G.S. 1998. Influence of vine capacity and crop load on canopy development, morphology and dry matter partitioning in Concord grapevines. American Journal of Enology and Viticulture 49: 183-190.
- Murisier F., Ziegler R. 1991. Effects de la charge en bourgeons et de la densité de plantation sur le potentiel de production, sur la qualité du raisin et sur le développement végétatif. Revue Susisse de Viticulture. Arboriculture et Horticulture 23 : 277-282.
- Pedroso V., Brites J., Martins S., Lopez C., Castro R. 1998. Influence du mode de conduite et charge en bourgeons sur les résultats agronomiques du cépage Touriga Nacional région Dao. G.E.S.CO. 10: 210-215.
- Reynolds A.G., Wardle D.A., Dever M. 1994. Shoot density effects on Riesling grapevines: interaction with cordon age. American Journal of Enology and Viticulture 45: 435-433.
- Tassie E., Freeman B.M. 1992. Pruning. p. 66-84. In: B.G. Coombe and P.R. Dry (eds.), Viticulture, Vol. 2, Practices. Winetitles, Adelaide (Australia).
- Yuste J. 2000. Un nuevo sistema de poda mixta en cordón para variedades de fertilidad y producción limitadas: sistema Yuste. Viticultura y Enología Profesional 70. 25-37.
- Yuste J., Rubio J.A., Alburquerque M.V., Lissarrague J.R. 2001. Respuesta de la variedad Tempranillo a distintos niveles de poda en dos sistemas de conducción en la Ribera del Duero. Viticultura y Enología Profesional 73: 49-61.

Acknowledgements

The development of this work has been possible thanks to financial support from Junta de Castilla y León and FEDER funds, and cooperation of colleagues of Department of Viticulture at the Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León.

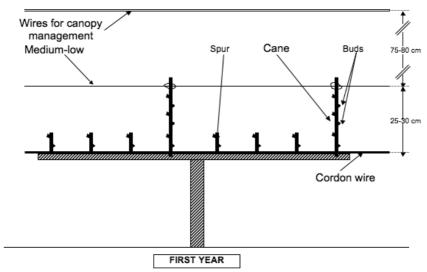


Figure 1. Scheme of Yuste system, mixed pruning, on a bilateral cordon, in the first year.

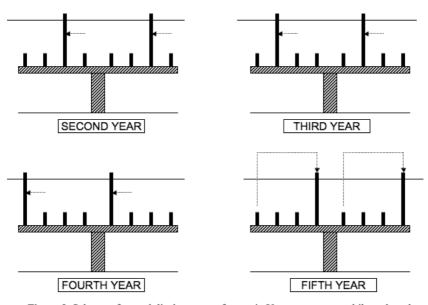


Figure 2. Scheme of annual displacement of canes in Yuste system, on a bilateral cordon.

CONTRIBUIÇÃO PARA A CARACTERIZAÇÃO DOS DIFERENTES "TERROIRS" NA SUB-REGIÃO DE BORBA DOC ALENTEJO

Luís GASPAR¹; Helena FERREIRA²; Óscar GATO³; João BARROSO⁴

RESUMO

A sub-região de Borba abrange diferentes solos e origens geológicas que influenciam as características qualitativas dos vinhos ali produzidos.

Com base nos dados recolhidos na Adega Cooperativa de Borba (ACB) durante as vindimas de 2003 a 2012, e analisando-se alguns dos principais parâmetros qualitativos das uvas por um lado e dos solos e plantas por outro, faz-se uma discussão da potencial influência do factor solo nas características dos vinhos produzidos, de forma a contribuir para uma melhor compreensão e conhecimento dos terroirs da sub-região.

Palavras-chave: Terroir, solos, qualidade uvas, análise foliar

1 - INTRODUÇÃO

A Adega de Borba tem como rotina a avaliação continua e sistemática das uvas que são entregues pelos produtores da região de Borba, determinando diversos parâmetros qualitativos. Estas uvas são acompanhadas e identificadas através de um Sistema de Informação Geográfico, sendo de parcelas homogéneas, à qual é atribuída uma referência, que quando vindimada é ligada às uvas na sua entrada na adega. Com esta análise pretende-se contribuir para o aprofundamento do conceito "terroir" às uvas, em que a falta de estudos é recorrente, sendo verdade que tal como é referido por (WHITE, 2003), é sempre muito difícil quantificar a relação existente entre o terroir e as características

-

^{1,2e3} Adega Cooperativa de Borba, C.R.L.; Largo Gago Coutinho e Sacadura Cabral 25 – Ap. 20; 7151-913 Borba, Portugal. E - mail: ¹luis.gaspar@adegaborba.pt; ²helena.ferreira@adegaborba.pt; ³oscar.gato@adegaborba.pt

⁴ Departamento de Fitotecnia, Universidade de Évora. 7000 Évora, Portugal. E – mail: immb@uevora.pt

dos vinhos neles produzidos. A casta, o tipo de solo, o clima, a rega são factores que influenciam ou não a qualidade das uvas? (LEEUWEN, 2004) afirma que é difícil estudar o efeito de todos os parâmetros relativos ao conceito "terroir" numa única experiência, os vinhos são produzidos de uvas que se desenvolvem nos mais variados tipos de solo, e nem sempre é possível estabelecer uma relação directa entre os tipos de solo e a qualidade dos vinhos (SEGUIN, 1983). Dando continuidade a um trabalho que vem já sendo feito desde 2003, e tendo neste momento bastantes dados a partir de 2006, optouse por fazer esta exposição por forma a perceber de que forma os diversos tipos de solo da sub- região de Borba poderão ser associados à qualidade das uvas e consequentemente aos seus vinhos e assim contribuir para a identificação de potenciais terroirs na região.

2 - MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 - Caracterização geral da análise

Uvas

Entre 2003 e 2012, foram recolhidas amostras de mosto de uvas, brancas e tintas, dos reboques dos sócios da ACB. A amostra foi recolhida na báscula, através de um colhedor de amostras, que tritura as uvas e canaliza o mosto para uma cuba de recepção. O mosto foi de seguida filtrado por um filtro de fluxo de ar com uma porosidade equivalente ao papel Whatman nº1. Recolheram-se cerca de 30 ml de mosto, que foram analisados num equipamento FTIR – Infravermelho com Transformada de Fourier (Grapescan FOSS). Da análise obtiveram-se os resultados dos seguintes parâmetros: °Brix, Acidez Total (expressa em g ác. tartárico/L), pH, Azoto Assimilável e K⁺.

Solos e Folhas

Durante a campanha de 2012 foram recolhidas 132 amostras de folhas e 126 amostras de solos das vinhas dos nossos associados correspondentes a idêntico número de parcelas de vinha. Para isso delimitaram-se zonas de amostragem com base em diferenças significativas como idade da vinha, tipo de solo, casta ou distância entre parcelas, constituídas por cerca de 40 plantas, 20 plantas numa linha e 20 plantas na linha ao lado.

Na recolha das amostras de solo utilizou-se uma metodologia habitual de vários pontos de piquetagem por cada parcela a uma profundidade entre 5 a 50 cm. As amostras de

folhas foram efectuadas durante o estado fenológico I – Floração, retirando-se cerca de 60 folhas por amostra, duas em cada videira sendo que as folhas retiradas são as opostas ao cacho da base.

A Adega Cooperativa de Borba utiliza desde 2002 um Sistema de Informação Geográfica que entre outras coisas, permite identificar exactamente a parcela de vinha de onde é proveniente a entrega de uva. Com esta identificação conseguimos assim associar cada entrega de uva ao tipo de solo que lhe é correspondente com base na carta de solos.

Da totalidade das entregas de uva entre 2003 e 2012 optamos por utilizar apenas as entregas dos últimos 7 anos, a partir de 2006. Das 21395 entradas de uvas entre 2006 e 2012 seleccionaram-se 21035 amostras, às quais associamos os tipos de solo com base na carta de solos. As amostras correspondem à globalidade das entregas de 398 sócios, cujos solos são únicos e estão bem definidos no quadro 1.

Quadro 1 - Solos e sua descrição segundo a carta dos solos de Portugal 30B e o número de amostras recolhidas por solo

		Numero de
Classificação	Descrição	amostras
do Solo		recolhidas
Vcc	Solos Mediterrâneos Vermelhos ou Amarelos de calcários cristalinos ou marmores ou rochas crisialofilicas cálcio-siliciosas	4719
Vx	Solos Mediterrâneos Vermelhos ou Amarelos de xistos	4372
Px	Solos Mediterrâneos Pardos de xistos ou gauvaques	4084
Pv	Solos Mediterrâneos Vermelhos ou Amarelos de rochas cristalofilicas básicas	1893
Ex	Litossolos (solos esqueléticos) de xistos ou gauvaques	1729
Pvc	Solos Mediterrâneos Vermelhos ou Amarelos de material coluviado de solos Vcc	842
A	Aluviossolos Modernos de textura mediana	659
Sb	Solos de Baixas (Coluviossolos) de textura mediana	590
Pm	Solos Mediterrâneos Pardos de dioritos ou quartzo dioritos ou rochas microfanerilicas ou crisialofilicas afins	556
Vgn	Solos Mediterrâneos Vermelhos ou Amarelos de gnaisses ou rochas afins	513
Vov	Solos Mediterrâneos Vermelhos ou Amarelos de calcários cristalinos associados a outras rochas cristalofilicas básicas	455
Pgn	Solos Mediterrâneos Pardos de gnaisses ou rochas afins	243
Pmn	Solos Mediterrâneos Pardos de rochas cristalofílicas	128
Sr	Solos Mediterrâneos Vermelhos ou Amarelos de "rañas" ou depósitos afins	119
СЬ	Barros Castanho - Avermelhados Não Calcários de basaltos ou doleritos ou outras rochas eruptivas básicas	56
Vc	Solos Calcários vermelhos de calcários	24
Scv	Solos Mediterrâneos Vermelhos ou Amarelos de material coluviado de solos Vov	21
Pvx	Solos Mediterrâneos Vermelhos ou Amarelos de material coluviado de solos derivados de xistos	17
Pcx	Solos Calcários Pardos de xistos associados a depósitos calcários	9
Ca	Solos Hidromórficos de aluviões ou coluviais de textura mediana	5
Pc	Solos Calcários Pardos de calários não compactos	3

2.2 - Análise Estatística

No tratamento dos resultados realizou-se uma análise de variância (ANOVA) dos dados utilizando o procedimento GLM do software estatístico IBM SPSS Statistics (versão 21, 2012) usando o tipo de solo como factor fixo. A separação de média foi efectuada pelo teste de Tukey. As diferenças foram consideradas significativas para P < 0,05. Na tentativa de verificar se as características das uvas permitiam o agrupamento em 9 "Terroirs" distintos, realizou-se uma análise de componentes principais, que usou as

características analíticas das uvas à vindima como variáveis de base e os "terroirs" como variáveis de destino. Esta análise usou o software estatístico IBM SPSS Statistics (versão 21, 2012).

3 - DISCUSSÃO E RESULTADOS

3.1 - Comportamento ao longo da Vindima

A caracterização das vindimas relativos aos anos de 2006 a 2012 encontram-se na figura 1.

No período em análise podemos verificar que os anos mais produtivos foram de 2006 e

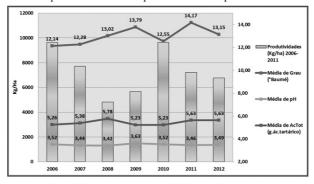


Figura 1 - Caracterização das Vindimas 2006-2012 (Produtividade (Kg/ha), Grau (°Baumé), pH, Ac.Total (g.ác.tartárico))

2010, sendo os menos produtivos 2008 e 2009. Em 2006,2007 e 2010 foram os anos com a média de grau mais baixa, em 2011 foi o ano com a média de grau mais alto. A média de pH mais baixo foi nos anos de 2007 e 2008 e a Ac. Total mais elevada foi em 2008.

A evolução dos diferentes parâmetros qualitativos ao longo da vindima, exceptuando o teor em açúcares, seguiu a mesma tendência em todos os solos.

À excepção dos solos Vcc, todos os solos apresentam uma tendência de diminuição do teor de açúcares nas campanhas 2006 a 2012 ao longo da vindima. A evolução do °Brix nos solos Vcc é a única que apresenta uma tendência positiva, ao passo que os solos Ex, e Px apresentam uma tendência negativa, como representado na figura 2.

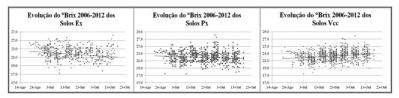


Figura 2 - Evolução do °Brix ao longo das vindimas de 2006 a 2012, evidenciando dois comportamentos distintos, associados à generalidade dos solos.

Assim nos solos de Ex e Px é evidente ao longo do tempo as perdas de teor de açúcares, já nos Vcc o aumento do °Brix é gradual. Tal como referido por (MAGALHÃES, 2008) no decurso da maturação a acumulação activa de açúcares aumenta gradualmente, até atingir um máximo, que permanece por algum tempo, dando depois lugar à concentração de açucares, apenas por desidratação. Os solos de xisto são sempre menos produtivos e com uma capacidade de armazenamento de água, inferior quando comparados com os solos argilo-calcários, que necessitam de mais tempo para concentrar os açúcares por desidratação. Assim nos últimos 7 anos as vindimas nos solos de xisto são sempre mais precoces, em que as uvas atingem a sua maturação ideal mais cedo.

3.2 - Representação Gráfica dos Solos e "Terroirs" da ACB

Na figura 2, podemos encontrar a nossa distribuição geográfica dos diversos solos segundo a carta de solos, os talhões de vinha e a divisão de 4 grupos por cores que representam a primeira divisão evidente, a vermelho os Xistos de Borba e Orada, a verde os Xistos de Rio de Moinhos e Gloria e a cor de laranja a representação do maciço calcário que se estende longitudinalmente de nordeste para sudeste.

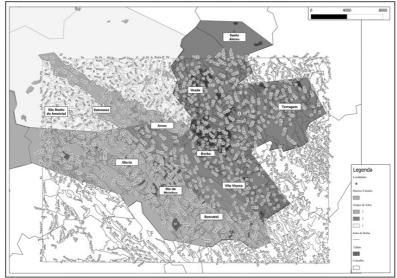


Figura 3 – Representação gráfica dos solos e "terroirs" da ACB

Havendo a percepção que as 4 zonas delimitadas na fig.3 poderiam apresentar diferenças significativas nos parâmetros qualitativos da uva decidimos agrupar os nossos solos em 9 zonas diferentes como descrito no quadro 2.

Quadro 2 – Representação da associação dos solos existentes aos terroirs percepcionados definindo 9 zonas diferentes

delimingo y zonas aner	
Classificação de Solo	Terroirs
Px	Px-R
FX	Px-B
	Ex-R
Ex	Ex-B
	Ex-O
Vx	Vx-O
Pvc de S. Lourenço, Estremoz e S. Vitória	Pmv/Pvc-E
Scv	
Vcc	Vcc/Pvc-A
Vcv	100/11071
Pvc dos Arcos	
Pgn	
Pm	
Pmn	PV-E
Pv	L 4-E
Pvx	
Sr	

3.3 - Influência das características químicas do solo, das plantas e das uvas 3.3.1 - Solo

No que respeita às características químicas dos solos, a análise de variância com teste de comparação de médias mostrou que apenas existem diferenças entre solos para as variáveis Cal activa, fósforo disponível, potássio disponível e matéria orgânica.

Pela análise da figura 4 podemos verificar que em todos os parâmetros, à excepção do potássio, os solos de xistos (Px, Ex e Vx) não apresentam diferenças significativas entre si, assim como os solos argilo-calcários (solos 4 e 5).

No parâmetro potássio, o solo Ex apresentou níveis médios significativamente mais altos do que em todos os outros tipos de solo, em particular quando comparado com os outros solos de xistos.

Relativamente à % de matéria orgânica, os solos de xistos (Px, Ex, Vx) apresentam teores mais baixos, em particular os solos Ex, o que de acordo com Cardoso (1961), é uma característica típica destes solos.

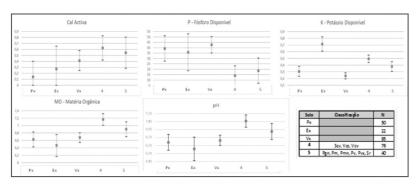


Figura 4 - Intervalos de confiança a 95% das variáveis das análises de solo [Cal (% CaCO3), Fósforo (mg/Kg), Potássio (meq/100g) e Matéria Orgânica (%)] associados ao factor solo.

3.3.2 - Plantas

Analisando a figura 5 podemos verificar diferenças em alguns nutrientes, nomeadamente a nível de K, B, Mn, Fe, Mg e Zn que segundo (Magalhães, 2008) quando em carência, podem exercer uma influência negativa na qualidade, quer directamente, quer indirectamente pela redução da actividade fotossintética das folhas.

As análises foliares, revelaram diferenças significativas entre solos para as variáveis Enxofre, Boro, Cálcio, Cobre, Ferro, Magnésio, Manganês, Azoto, Potássio, Sódio e Zinco. Na figura 5 é interessante verificar que as plantas, no solo Ex, apresentaram valores médios mais altos e significativamente diferentes dos outros solos nos parâmetros cobre, manganês, azoto e potássio. Os valores médios mais altos do teor de potássio nas plantas neste solo, estão coerentes com os teores de potássio mais elevados no solo Ex discutidos anteriormente.

Nos outros parâmetros da análise foliar, existem diferenças entre os solos, mas estas não são significativas entre os solos de xistos (Px, Ex e Vx) e os solos argilo-calcários (solos 4 e 5).

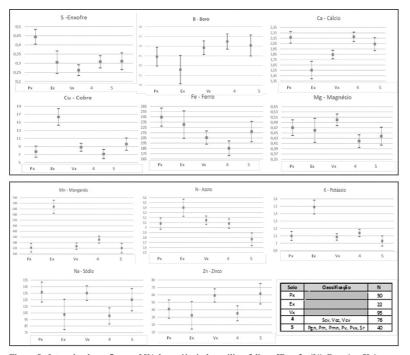


Figura 5 - Intervalos de confiança a 95% das variáveis das análises foliares [Enxofre (%), Boro (mg/Kg), Cálcio (%), Cobre (mg/Kg), Ferro (mg/Kg), Magnésio (%), Manganês (mg/Kg), Azoto (%), Potássio (%), Sódio (mg/Kg) e Zinco (mg/Kg)] associados ao factor solo.

3.3.3 - Uvas

Nesta análise não avaliámos a influência de factores como o ano, casta, clima ou intervenções humanas, uma vez que pretendíamos verificar se nos principais solos da Adega de Borba existem diferenças significativas na qualidade das uvas independentemente destes factores. A análise de variância com teste de comparação de médias mostrou que existem diferenças entre solos para as variáveis Brix, Acidez Total, pH, N e K.

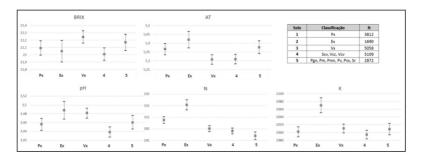


Figura 6 - Intervalos de confiança a 95% das variáveis das uvas [Brix (°), Acidez Total (g/l), pH Azoto (mg/l) e Potássio (mg/l)] associados ao factor solo

Analisando a figura 6, seria de esperar maiores diferenças entre os solos de xisto (Px, Ex e Vx) e os argilo-calcários (grupos 4 e 5) e valores médios de Brix mais altos nos solos Px, Ex e mais próximos dos solos Vx, uma vez que estes solos estão normalmente associados a um potencial qualitativo das uvas mais elevado, menores produtividades, maior concentração de compostos fenólicos e maturações mais precoces, como referido anteriormente. No entanto temos que ter em conta que nestes 2 tipos de solo ocorrem normalmente condições de stress hídrico severo durante a maturação das uvas, com paragens de síntese de açúcares que se traduzem em uvas vindimadas mais cedo com Brix médios mais baixos. Os valores médios mais altos que se verificam no solo Vx, estão aqui associados a uvas vindimadas no final da campanha, mantidas na vinha com o intuito de aumentar o Brix.

Podemos verificar que ao nível dos teores de azoto assimilável e de potássio nas uvas, os solos Ex são significativamente diferentes dos outros solos, com valores médios mais altos. Mais uma vez estes resultados vão de encontro aos obtidos na análise das características químicas do solo e da análise foliar no caso do potássio, com médias mais altas

no solo Ex para os parâmetros azoto e potássio. KELLER (1998) e RÜHL (2000) referem que a presença destes compostos nas uvas é proporcional à sua concentração nas plantas e também no solo. Efectivamente no solo Ex, com maior concentração de potássio, as plantas adquiriram valores médios mais altos de azoto e potássio, obtendo-se uvas com médias mais altas nestes dois parâmetros.

3.3 - Expressão dos Terroirs da Sub-Região

Como referido anteriormente, empiricamente consideramos que existem quatro terroirs distintos na sub-região, que imputam características distintas às uvas e vinhos neles produzidos. Julgávamos que na análise de componentes principais (ACP) com os parâmetros qualitativos das uvas poderíamos agrupar distintamente os diferentes terroirs ou a associação destes como os solos. Nesta análise conseguimos representar 67,17 % da variância através das componentes principais 1 e 2. A figura 7 mostra que em vez de termos grupos distintos dos nove terroirs nos sete anos de estudo, conseguimos sim evidenciar diferenças entre os sete anos de colheita, sobrepondo-se estes ao terroir.

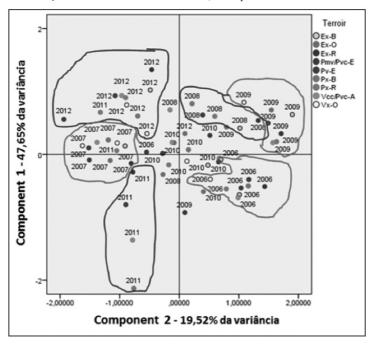


Figura 7 - Representação gráfica da ACP em função do terroir

CONCLUSÃO

O factor solo não é suficiente por si só para evidenciar as diferenças nos parâmetros de qualidade das uvas, sendo necessário analisar outros factores como o ano de colheita, disponibilidade hídrica, casta e condicionantes agronómicas, para explicar diferenças nestes parâmetros.

As variáveis "parâmetros qualitativos das uvas" não são suficientes para individualizar os terroirs existentes na sub-região de Borba através da análise de componentes principais. Futuras análises deverão incluir outras variáveis como disponibilidade de água, casta, práticas agrícolas, produtividade e outras relevantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARDOSO, José Vicente de Jesus de Carvalho (1961). Os solos de Portugal : sua classificação, caracterização e génese. Ministério da Economia. Secretaria de Estado da Agriculttura. Direcção Geral dos Serviços Agrícolas. Lisboa.
- KELLER, M.; ARNINK, K. J.; HRAZDINA, G. (1998). Interaction of nitrogen availability during blooming and ligh intensity during "Vèraison". I. Effects on grapevine growth, fruit development, and ripening. American Journal of Enology and Viticulture, v. 49, n. 3, p. 333-340, Davis.
- MAGALHÃES, Nuno (2008). Tratado de Viticultura A Videira, a vinha e o terroir. Chaves Ferreira Publicações, Lisboa
- NASCIMENTO, Nuno et al. (2007). Análise de parâmetros qualitativos em castas e solos do Alentejo, In Actas 7º Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo. Évora.
- RÜHL, E. H. (2000). Effect of Rootstocks and K+ supply on pH and aciditity os grape juice. In List of proceedings of the XXV IHC, Part 5 Acta Horticulturae no 512: 31-37.
- SEGUIN G., (1983). Influence des terroirs viticoles sur la constitution et la qualité des vendanges. Bull. OIV, 56, 623, 3-18., França
- VAN LEEUWEN, Cornelis (2004). Influence of Climate, Soil, and Cultivar on Terroir. Am. J. Enol. Vitic. 55:3, França.

EFECTO DE LA PODA MECANIZADA EN EL VIGOR, RENDIMIENTO Y CALIDAD DE LA UVA. PRIMEROS RESULTADOS.

Pilar RAMÍREZ, Jesús LASHERAS, Juan Manuel LEÓN, Virginia GONZÁLEZ

IFAPA Centro de Cabra, Crta. Cabra-Doña Mencía, km 2.5, 14940 Cabra (Córdoba)

RESUMEN

Durante los años 2011 y 2012, se ha evaluado la influencia de la poda mecanizada con la poda manual en las variedades Merlot y Syrah cultivadas en la zona de Montilla-Moriles. Los tratamientos aplicados fueron: Poda manual en cordón doble con 16 yemas de carga y poda mecánica con podadora de precisión Pellenc TRPTM en cordón doble dejando 43 yemas aproximadamente. En los dos años evaluados, la poda mecanizada de precisión ha aumentado la producción significativamente, sin afectar al peso de la madera de poda. La maduración en las cepas podadas con poda mecanizada de precisión, fue más lenta que con la poda manual, pero a pesar de la mayor producción, la uva llegó a alcanzar un contenido de azúcares adecuado para la elaboración de vinos tintos, con un contenido de antocianos y taninos suficiente.

Palabras clave: cordón doble, costes, madurez fenólica, Merlot, Syrah.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, las explotaciones vitícolas andaluzas tienen una escasa rentabilidad económica, suponiendo el gasto de mano de obra un 65% aproximadamente de los gastos totales de explotación. La poda y la vendimia son las operaciones de cultivo que más mano de obra requieren. Para mejorar la rentabilidad sería necesario obtener mejores precios por la uva, pero también reducir los costes de producción.

Existen en Andalucía muchas explotaciones vitícolas preparadas para la mecanización de la prepoda y de la vendimia, donde el sistema de poda es en cordón doble o simple y el sistema de empalizamiento es en espaldera, que permite una disposición de la vegetación ascendente. En muchas de las explotaciones, sobre todo en las de tamaño medio

y grande, la prepoda se realiza con frecuencia de forma mecánica, reduciendo en un 15% los costes de la poda. Sin embargo, aprovechando estas estructuras productivas, se podría mecanizar totalmente la poda, con el consiguiente ahorro de costes respecto a la poda manual.

Este estudio tiene como objetivo conocer el comportamiento agronómico y enológico de las variedades Merlot y Syrah podadas manual y mecánicamente en cordón, así como la repercusión en los costes de producción del cultivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este ensayo se ha realizado durante los años 2011 y 2012 en una parcela situada en Montilla (Córdoba). El material vegetal utilizado han sido las variedades Merlot y Syrah, injertadas sobre Ritcher 110 y Paulsen 1103 respectivamente. El marco de plantación es de 3 x 1.5 m, el sistema de empalizamiento es en espaldera y el cultivo es en secano. El diseño experimental ha sido en bloques al azar con dos tratamientos y tres repeticiones. Cada parcela elemental consta de 70 cepas dispuestas en una fila y los tratamientos aplicados han sido:

Poda manual en cordón doble con carga de 16 yemas.

Poda mecánica con podadora de precisión Pellenc TRPTM en cordón doble, que deja una carga media de 43 yemas aproximadamente. Esta poda requiere después un repaso manual para quitar los sarmientos que van hacia abajo del cordón y los más pegados a los postes de la espaldera, lo que supone una jornada de trabajo por hectárea.

En el momento de la vendimia se determinó la producción unitaria (kg/cepa), el número de racimos por cepa y el peso de 100 bayas (g). También se realizaron las siguientes determinaciones analíticas: sólidos solubles (°Brix), acidez titulable (g/l), pH, ácido málico (g/l) (DOCE, 1990), ácido tartárico (REBELEIN, 1973), índice de polifenoles totales (IPT), antocianos totales y extraíbles (mg/l) y taninos totales (g/l) (SAINT-CRICQ et al., 1998). Después de la caída de la hoja y coincidiendo con la poda se caracterizó el vigor de las cepas a través del peso de madera de poda (kg/cepa).

A los datos obtenidos se les ha realizado un análisis de la varianza, para una fuente de variación (sistema de poda), mediante el programa Statistix 8.0.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Para la variedad Merlot el rendimiento en el tratamiento de poda mecánica TRP, fue significativamente superior al manual, con incrementos de producción del 53% en 2011 y del 66.5% en 2012. Este aumento de producción en 2011 fue debido a un mayor número de racimos, consecuencia de la mayor carga dejada en la poda, dado que el peso de las bayas no varió entre tratamientos. Sin embargo, en 2012 influyó también en el rendimiento el peso de las bayas (Tabla 1). En el año 2011, cuando la uva en el tratamiento de poda manual llegó a una adecuada maduración, la de poda mecánica TRP no había alcanzado aún el nivel de madurez buscado. En 2012, aún alcanzando ambos tratamientos niveles de madurez adecuados, se observan en la fecha de vendimia diferencias significativas entre ambos, siendo la concentración de sólidos solubles superior en el tratamiento de poda manual respecto a la mecánica. También se obtuvieron diferencias significativas en la concentración del ácido tartárico en el año 2011, con niveles más bajos para la poda manual, mientras que la concentración de ácido málico resultó ser significativamente mayor en este tratamiento respecto a la poda mecánica TRP. En cuanto a los parámetros que definen la madurez fenólica, el IPT, la concentración de antocianos totales y extraíbles en los dos años evaluados, y la de taninos en el año 2012, fueron significativamente mayores en el tratamiento de poda manual respecto a las obtenidas en la poda mecánica TRP, lo que podría explicarse por la menor madurez de la uva en este tratamiento en el momento de la vendimia (Tabla 2).

En el año 2012 se ha iniciado este ensayo, también en la variedad Syrah. La producción de las cepas podadas mecánicamente fue significativamente superior a las podadas manualmente, con incrementos de producción del 51%, lo que podría explicarse por un mayor número de racimos, ya que el peso de las cien bayas resulta significativamente menor para este tratamiento (Tabla 3). En cuanto a los parámetros físico-químicos del mosto, se han encontrado diferencias significativas en los sólidos solubles, pH, acidez total y ácido tartárico, siendo mayores en el sistema de poda manual los sólidos solubles y el pH, y menores la acidez total y el ácido tartárico respecto a la poda mecánica TRP. Para los parámetros que definen la madurez fenólica de la uva, se han encontrado diferencias significativas en el contenido de antocianos totales y extraíbles, siendo más elevados en la poda manual, mientras que en el contenido de taninos no se han encontrado

diferencias significativas. Ocurre en esta variedad lo mismo que en Merlot en el año 2011, y es que cuando se realizó la vendimia, las uvas del tratamiento de poda mecánica aún no habían llegado al nivel de madurez buscado (Tabla 4).

Debido a la escasa maduración que la uva alcanzó en el sistema de poda mecánica TRP en el año 2011 en la variedad Merlot y en el año 2012 en la variedad Syrah, se decidió dejar unas cepas control para seguir muestreando después de la fecha de vendimia y comprobar si a pesar del nivel de producción tan elevado, eran capaces de madurar adecuadamente la uva. En Merlot, la uva llegó a alcanzar 25.8 °Brix, veinticuatro días después de la vendimia, sin embargo este aumento de sólidos solubles es posible que fuera debido a la concentración de los mismos por pérdida de agua en las bayas y no a su síntesis, lo cual se refleja en la pérdida progresiva del peso de las bayas en los dos muestreos realizados posteriormente. La concentración de antocianos, taninos e IPT también aumentó ocho días después de la vendimia (Tabla 5). En Syrah la uva llegó a alcanzar 23.5 °Brix, quince días después de la vendimia, la concentración de antocianos, taninos e IPT también aumentó. En este caso, no se observó perdida de peso en las bayas (Tabla 6).

		Poda Manual	Poda Mecánica TRP	Significación
	Fecha de vendimia	02	2/08/2011	
	Producción (kg uva/cepa)	5.3b	11.4a	**
2011	Madera poda (kg/cepa)	0.9	0.8	n.s.
	Peso de 100 bayas (g)	169.75	166.60	n.s.
	Número de racimos	25.9b	67.6a	**
	Fecha de vendimia	08	3/08/2012	
	Producción (kg uva/cepa)	1.2b	3.2a	*
2012	Madera poda (kg/cepa)	0.7	0.7	n.s.
	Peso de 100 bayas (g)	79.39b	87.40a	*
	Número de racimos	17.0b	36.7a	*

En 2012 se realizó una comparación de los costes de poda entre los dos tratamientos evaluados. Para el sistema de poda mecánica TRP, se obtuvo un ahorro de 180 €/ha respecto a la poda manual con prepoda mecánica previa y de 252 €/ha respecto a la poda totalmente manual (Tabla 7). Como la poda mecánica TRP supone importantes incrementos de producción, esto se traduce también en un incremento de los ingresos y, por tanto, del beneficio por hectárea (Tabla 8).

En los años estudiados, tanto en la variedad Merlot como Syrah, con el sistema de poda mecánica TRP, la producción ha sido significativamente más alta y no ha afectado significativamente al peso de la madera de poda. La maduración en este sistema de poda fue más lenta, pero aproximadamente tres semanas después de la vendimia, la uva llegó al contenido de azúcares suficiente para la elaboración de vinos tintos, con un contenido de antocianos y taninos similar a las concentraciones obtenidas en las cepas podadas de forma manual. No obstante, es necesario seguir con este estudio para evaluar el comportamiento de las cepas a largo plazo.

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Producción, madera de poda, peso de 100 bayas y número de racimos de Merlot en los dos tratamientos evaluados (2011-2012).

Tabla 2. Parámetros físico-químicos y de madurez fenólica de Merlot en el momento de la vendimia en los dos tratamientos evaluados (2011-2012)

		Poda Manual	Poda Mecánica TRP	Significación
	Sólidos solubles (°Brix)	24.5a	19.1b	*
	pН	3.37	3.28	n.s.
	Acidez total (g/L)	5.6	7.5	n.s.
	Acido tartárico (g/L)	5.9b	8.3a	*
2011	Acido málico (g/L)	2.1a	1.2b	*
	IPT	29.0a	23.5b	*
	Antocianos totales (mg/L)	821.3a	509.4b	**
	Antocianos extraíbles (mg/L)	367.6a	248.4b	**
	Taninos (g/L)	1.2	1.0	n.s.
	Sólidos solubles (°Brix)	26.0a	23.8b	*
	pН	3.27	3.26	n.s.
	Acidez total (g/L)	6.2	6.5	n.s.
	Acido tartárico (g/L)	10.0	10.2	n.s.
2012	Acido málico (g/L)	1.0	1.4	n.s.
	IPT	43.7a	32.2b	*
	Antocianos totales (mg/L)	954.8a	684.7b	**
	Antocianos extraíbles (mg/L)	418.2a	303.2b	**
	Taninos (g/L)	2.4a	1.6b	*

	Poda Manual	Poda Mecánica TRP	Significación
Fecha de vendimia	09	/08/2012	
Producción (kg/cepa)	2.6b	5.1a	**
Madera de poda (kg/cepa)	0.5	0.7	n.s.
Peso de 100 bayas (g)	86.24a	68.86b	*
Número de racimos	23.8b	83.0a	**

Tabla 4. Parámetros físico-químicos y de madurez fenólica de Syrah en el momento de la vendimia en los dos tratamientos evaluados (2012)

	Poda Manual	Poda Mecánica TRP	Significación
Sólidos solubles (°Brix)	23.3a	18.1b	*
pН	3.14a	2.97b	*
Acidez total (g/l)	7.7b	9.4a	*
Acido tartárico (g/l)	11.5b	13.2a	*
Acido málico (g/l)	1.6	1.8	n.s.
IPT	37.0	32.0	n.s.
Antocianos totales (mg/l)	1023.1a	686.6b	*
Antocianos extraíbles (mg/l)	433.1a	289.3b	**
Taninos (g/l)	1.8	1.6	n.s.

Tabla 3. Producción, madera de poda, peso de 100 bayas y número de racimos de Syrah en los dos tratamientos evaluados (2012).

Tabla 5. Seguimiento de sobremaduración de Merlot en el sistema de poda mecánica TRP después de la fecha de vendimia (2011)

Fecha de muestreo	02/08/2011(1)	10/08/2011	26/08/2011
Peso de 100 bayas (g)	166.60	144.81	121.96
Sólidos solubles (°Brix)	19.1	21.9	25.8
pH	3.28	3.30	3.43
Acidez total (g/L)	7.5	7.4	4.7
Acido tartárico (g/L)	8.3	10.5	6.5
Acido málico (g/L)	1.2	1.9	1.8
IPT	23.5	30.9	30.2
Antocianos totales (mg/L)	509.4	772.4	775.2
Antocianos extraíbles (mg/L)	248.4	370.6	360.6
Taninos (g/L)	1.0	1.4	1.3

⁽¹⁾ Fecha de vendimia

Tabla 6. Seguimiento de sobremaduración de Syrah en el sistema de poda mecánica después de la fecha de vendimia (2012)

Fecha de muestreo	09/08/2012(1)	16/08/2012	24/08/2012
Peso de 100 bayas (g)	68.86	62.42	67.49
Sólidos solubles (°Brix)	18.1	20.2	23.5
pH	2.97	3.15	3.21
Acidez total (g/L)	9.4	7.7	6.9
Acido tartárico (g/L)	13.2	13.1	12.1
Acido málico (g/L)	1.8	1.2	0.8
IPT	32.0	41.9	44.7
Antocianos totales (mg/L)	686.6	1126.2	1009.5
Antocianos extraíbles (mg/L)	289.3	489.8	545.8
Taninos (g/L)	1.6	2.1	2.2

⁽¹⁾ Fecha de vendimia

Tabla 7: Comparativa de los costes de poda por hectárea de los dos tratamientos evaluados

Poda M	Poda Mecánica TRP	
Totalmente Manual	Prepoda + Manual	Con repaso
9 jornales	90 € ⁽¹⁾ + 6 jornales	180 € ⁽¹⁾ + 1 jornal
486 €	414€	234 €

⁽¹⁾ Coste de la empresa de prestación de servicios

Tabla 8: Incrementos de producción y beneficios por hectárea de las dos variedades estudiadas (2012)

		, ,		
Variedad	Δ Producción en poda mecánica TRP	Δ Ingresos por la uva $^{(1)}$	Δ Beneficio ⁽²⁾	
	(kg/ha)	(€/ha)	(€/ha)	
Merlot	4533.3	1360	1540	
Syrah	5688.8	1707	1887	

 $^{^{(1)}}$ Los ingresos se han calculado considerando el precio de la uva de 0.30 €/kg $^{(2)}$ El Δ Beneficio se ha considerado con respecto a la opción de prepoda mecánica + poda manual

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DOCE, 1990. Reglamento (CEE) 2676/90 de la Comisión, de 17 de septiembre, por el que se determinan los métodos de análisis comunitarios aplicables en el sector del vino. DOCE, L 272, 03/10/1990.
- REBELEIN, H., 1973. Precise routine determination of tartaric and lactic acid in wine and similar beverages. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* 2, 112-121.
- SAINT-CRICQ DE GAULEJAC N., VIVAS N., GLORIES Y., 1998. Maturation phénolique des raisins rouges relation avec la qualité des vins comparaison des cépages Merlot et Tempranillo. *Le Progrés Agricola et Viticola* 115, 306-318.

AGRADECIMIENTOS

Los resultados presentados han sido obtenidos en el marco del proyecto Transforma vid y vino del Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA). cofinanciado al 80% por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional, dentro del Programa Operativo FEDER de Andalucía 2007-2013.

EFEITO DA ÉPOCA E INTENSIDADE DE DESFOLHA NA CASTA SAUVIGNON

Jorge CORREIA¹; Amândio CRUZ^{1,4}; Bento ROGADO²; Pedro CLÍMACO³; Rogério de CASTRO^{1,4}

RESUMO

Neste trabalho, desenvolvido em 2011 na região vitivinícola de Lisboa (Quinta do Gradil), estudou-se o comportamento agronómico da casta Sauvignon em três diferentes épocas (FL - floração, BC - bago de chumbo e P - pintor) e três intensidades de desfolha (ND - não desfolha, 1L - desfolha de um lado da sebe e 2L - desfolha nos dois lados da sebe). Da conjugação das épocas e intensidades de desfolha resultaram sete modalidades (ND, FL1L, FL2L, BC1L, BC2L, P1L e P2L). A realização de uma desfolha precoce, à floração, permitiu também observar o efeito desta técnica em relação à compactação do cacho, redução do rendimento e qualidade das uvas e vinho. As desfolhas consistiram na remoção de uma faixa de folhas entre 35 a 40 cm na base da sebe, com o intuito de simular uma máquina de desfolha.

Nas videiras mais intensamente desfolhadas (2L), independentemente da época, verificou-se o aumento da porosidade da sebe, exposição dos cachos e melhoria do microclima luminoso dos bagos à maturação, comparativamente à modalidade ND. Esta modificação na estrutura da sebe e no microclima luminoso reflectiu-se na diminuição de podridão cinzenta (excepto pintor). Face à modalidade ND as desfolhas mais severas (2L) reduziram significativamente, em todas as épocas (excepto pintor), o rendimento, sem alterar os parâmetros qualitativos das uvas e vinho. As desfolhas realizadas precocemente (FL) reduziram tendencialmente o número de bagos vingados por cacho, no entanto, esta redução não teve um efeito significativo na diminuição do rendimento das modalidades FLILe FL2L.

Palavras-chave: videira, "Sauvignon", desfolha, épocas, intensidades, qualidade.

1- INTRODUÇÃO

Tendo em vista a qualidade das uvas e do vinho, as intervenções em verde são fundamentais numa viticultura competitiva (CASTRO *et al.*, 2006). Estas operações são rea-

¹⁻ ISA, Instituto Superior de Agronomia, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa. Portugal, Tel.: 213653454, Correio electrónico: amandiocruz67@gmail.com

²⁻ QUINTA DO GRADIL, Soc. Vitivinícola SA., Vilar-Cadaval

³⁻ INIAV – Dois Portos, Quinta da Almoinha, 2565-191 Dois Portos

⁴⁻ CBAA - Centro de Botânica Aplicada à Agricultura, ISA

lizadas sobre os órgãos herbáceos da videira com o objectivo de modificar o seu número, peso, superfície e posição (BRANAS, 1974), e entre elas destacam-se a desponta, orientação da vegetação, desladroamento, monda de cachos e desfolha. A desfolha é uma intervenção menos comum (MAGALHÃES, 2008), no entanto pode desempenhar um papel relevante no controlo sanitário dos cachos, visto aumentar o arejamento e melhorar a penetração dos produtos fitossanitários na zona de frutificação (CLÍMACO e CUNHA. 1986). A desfolha tem ainda outras especificidades, ou seja, reduzir o tempo de vindima (CASTRO et al., 2006), aumentar a exposição solar dos cachos, permitindo uma melhor maturação dos bagos (SMART e ROBINSON, 1991) e controlar a quantidade e qualidade das uvas, quando realizada um estado fenológico precoce (PONI et al., 2006). A realização da desfolha num estado fenológico precoce visa, essencialmente, reduzir o rendimento, obter cachos menos compactos e, portanto, menos susceptíveis à podridão e, ainda, antecipar a maturação e a vindima, (PONI et al., 2006; INTRIERI et al., 2008). A época e intensidade da desfolha podem alterar de forma diferente e significativa a fisiologia da videira, pois uma parte do coberto vegetal fotossinteticamente activo é suprimida.

O presente trabalho teve como objectivo estudar o comportamento agronómico da casta Sauvignon, tradicionalmente com alguns problemas sanitários na região de Lisboa, submetida a diferentes épocas e intensidades de desfolha.

2- MATERIAL E MÉTODOS

O estudo decorreu durante o ciclo vegetativo de 2011 na Quinta do Gradil, no concelho do Cadaval (39°11'16" N, 9°06'51"W), inserido na região vitivinícola de Lisboa. O ensaio foi realizado com a casta Sauvignon, de 6 anos, enxertada em SO4, conduzida em monoplano vertical ascendente e com orientação Nordeste – Sudoeste. A vinha, não irrigada, tem um compasso de plantação de 2,65m x 1m (3374 plantas/ha) e situa-se a 76m acima do nível do mar. Segundo o sistema de classificação climática multicritério (CCM) o clima desta região vitícola pode-se classificar como temperado, de noites frias e de seca moderada (CLÍMACO *et al.*, 2012). O solo é de textura franca e com elevada capacidade de retenção de água.

A desfolha consistiu na remoção de todas as folhas e netas numa faixa de 35-40 cm de

altura a partir da base da sebe, pretendendo simular uma máquina. As desfolhas realizaram-se à floração (13 Maio), bago de chumbo (26 Junho) e pintor (21 Julho).

O delineamento experimental é do tipo blocos casualizados com três repetições (blocos) e sete modalidades. Em cada parcela elementar foram eleitas 8 das 24 videiras existentes, de carga média, para observações e análises. As modalidades foram estabelecidas tendo em conta três épocas e três intensidades de desfolha, desta forma consideraram-se sete modalidades: não desfolha (ND), desfolha à floração na face Norte (FL1L), desfolha à floração em ambas as faces (FL2L), desfolha ao bago de chumbo na face Norte (BC1L), desfolha ao bago de chumbo em ambas as faces (BC2L), desfolha ao pintor na face Norte (P1L) e desfolha ao pintor em ambas as faces (P2L).

Para a contabilização do número de bagos existentes por cacho, foram recolhidos 24 cachos médios por modalidade, em cepas não eleitas. A determinação da incidência, severidade e intensidade de ataque da podridão cinzenta foi realizada a 10 Setembro, sobre todos os cachos das videiras marcadas segundo a metodologia proposta por AMARO e RAPOSO (2001). A área foliar foi estimada pela metodologia proposta por LOPES e PINTO (2005), tendo sido eleitas 42 videiras, 6 em cada modalidade. Em cada videira escolheu-se um sarmento normal, frutífero e de vigor médio. A avaliação da densidade do coberto (Número de Camadas de Folhas - NCF), realizou-se através da metodologia "Point Quadrat" (SMART e ROBINSON, 1991). Na medição dos perfis de Radiação Fotossinteticamente Activa (PAR), utilizou-se um ceptómetro ("SunScan Ceptometer-type SS1 - Delta-T Devices"). A evolução da maturação foi avaliada através da colheita aleatória de 100 bagos por modalidade, sendo que em cada cacho seleccionado apenas se colhia um bago. As análises às amostras de bagos foram realizadas no laboratório de enologia da Quinta do Gradil e consistiram na determinação dos seguintes parâmetros: peso dos bagos, teor de álcool provável (TAP), pH e a acidez total. À vindima, realizada no dia 12 Setembro, foram contabilizados o número e o peso dos cachos em todas as videiras eleitas. A fermentação ocorreu em garrafões de vidro (20 litros), numa sala com ambiente controlado a 18°C. As análises aos vinhos foram realizadas através de um auto-analisador FTIR e a prova organoléptica foi efectuada por uma câmara de 12 provadores.

Na análise estatística dos dados usou-se o programa Statistica vers. 6.0, efectuando-se

o teste de F para a análise de variância, e expresso como: não significativo (n.s.), significativos para p<0,05 (*), p<0,01 (**), p<0,001 (***). Sempre que a análise revelou diferenças significativas procedeu-se à comparação de médias com base no teste Tuckey HSD com um nível de significância de 0,05. Os dados de área foliar, PAR e NCF foram tratados utilizando o programa Microsoft Excel, sendo os resultados sujeitos a correcção através do erro padrão médio.

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1- Área foliar

A Figura 1 mostra a evolução da área foliar nas sete modalidades em estudo. Verificase sempre uma redução da área foliar quando se procede a uma desfolha ou desponta. A
última desponta e desfolha (P1L e P2L) foram realizadas muito próximas uma da outra,
pelo que se verifica uma quebra mais acentuada na área foliar. Na parte final do ciclo,
observa-se uma estabilização no crescimento da vegetação, uma vez que os cachos passaram a ser o principal *sink* para os fotoassimilados produzidos nas folhas (CHAMPAGNOL, 1984). As desfolhas ao bago de chumbo (principalmente BC2L) evidenciam que
não existe uma recuperação significativa da área foliar total a partir da intervenção. Os
menores valores da área foliar total são obtidos devido ao fraco crescimento da área
foliar secundária, visto que a área foliar principal mantém-se a níveis semelhantes às
desfolhas realizadas à floração e pintor (CORREIA, 2012).

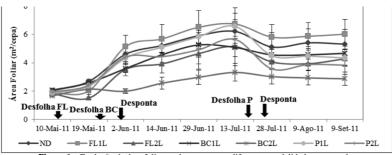


Figura 1 - Evolução da área foliar total por cepa nas diferentes modalidades em estudo.

3.2- Relação NCF/Microclima luminoso

Independentemente da modalidade de desfolha realizada observa-se a tendência para uma menor incidência da radiação nas modalidades com NCF superiores. Estes resultados foram igualmente obtidos por RODRIGUES (2009). As desfolhas realizadas ao bago de chumbo e ao pintor apresentam sebes menos densas, aumentando a intercepção da radiação na zona de frutificação. No entanto é importante referir que a PAR interceptada foi sempre superior ao ponto de compensação da luz para a fotossíntese (Figura 2). Verifica-se que as desfolhas proporcionaram sebes menos densas e consequentemente um aumento da radiação PAR na zona de frutificação, constatando-se, que quanto maior a intensidade de desfolha (2L), maior a PAR interceptada ao nível dos cachos.

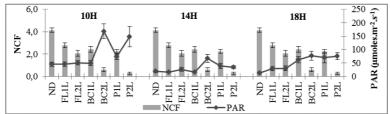


Figura 2 - Influência das modalidades de desfolha no número de camada de folhas (NCF) e na radiação PAR incidente no interior do coberto ao nível dos cachos, ao longo do dia (10H – 14H – 18H) à maturação.

3.3- Incidência, severidade e intensidade de podridão cinzenta

As videiras não desfolhadas originam sebes densas que dificultam a circulação do ar na zona de frutificação, induzindo uma menor evaporação e consequentemente uma maior humidade nos bagos, favorecendo portanto o desenvolvimento do fungo *Botrytis cinerea* Pers. (ENGLISH *et al.*, 1990). Assim, apesar de não ter sido um ano favorável ao aparecimento de podridão cinzenta, verifica-se que as desfolhas mais severas (2L) realizadas à FL e BC reduziram de forma significativa a quantidade de uva destruída pelo fungo. Por outro lado, o ataque de *Botrytis* nas modalidades desfolhadas ao pintor, pode ser explicado pela sua presença e desenvolvimento ainda antes da realização das respectivas desfolhas (Quadro 1).

Modalidades	Incidência (%)	Severidade (%)	Intensidade (%)	Rendimento (t/ha)	Uva destruída (kg/ha)
ND	19,8 a	14,1 a	3,0 a	18,1 a	610,9 a
FL1L	11,6 bc	13,8 a	1,9 abc	13,7 b	313,4 abc
FL2L	5,7 cd	4,6 bc	0,6 bc	12,3 b	87,9 bc
BC1L	13,2 ab	12,9 ab	1,8 abc	18,1 a	355,4 abc
BC2L	2,4 d	2,8 c	0,1 c	12,9 b	13,4 c
P1L	15,0 ab	17,9 a	3,1 a	16,2 ab	489,9 a
P2L	11,4 bc	10,7 abc	2,1 ab	15,0 ab	409,7 ab
Sig.	*	*	*	*	*

3.4- Número de bagos/cacho e caracterização físico-química das uvas

O parâmetro número de bagos/cacho pretende analisar a possível ocorrência de aborto floral nas modalidades desfolhadas precocemente (FL1L e FL2L), visto que uma redução severa da área foliar (terço inferior) pode comprometer o abastecimento de fotoassimilados às inflorescências (CHAVES, 1986). No Quadro 2, é possível constatar que as desfolhas não provocaram diferenças significativas no número de bagos/cacho. No entanto, verifica-se uma tendência para que a modalidade FL2L apresente valores inferiores, resultado aliás semelhante ao obtido por PONI *et al.* (2006). Outros trabalhos sobre desfolha precoce referem, porém, uma diminuição significativa do número de bagos (INTRIERI *et al.*, 2008; PONI *et al.*, 2008). Relativamente ao peso médio dos bagos, observa-se que a única diferença significativa existente é entre ND e as modalidades FL2L e BC2L.

Quadro 2 - Influência das modalidades de desfolha no número de bagos/cacho e na composição das uvas imediatamente antes da vindima.

Modalidades	Nº bagos/Cacho	Peso/bago (g)	TAP (% v/v)	pН	Acidez total (g ac. tar./l)
ND	98,0	2,3 a	13,6	3,2	6,2
FL1L	91,0	2,0 ab	13,9	3,3	5,9
FL2L	86,4	1,9 b	14,5	3,3	6,0
BC1L	88,5	2,1 ab	13,7	3,2	6,1
BC2L	89,9	1,9 Ь	14,4	3,2	6,4
P1L	101,2	2,2 ab	13,7	3,2	6,0
P2L	100,1	2,2 ab	14,0	3,3	6,0
Sig.	n.s.	*	n.s.	n.s	n.s.

A maior exposição dos cachos nas modalidades FL2L e BC2L originou uma maior desidratação dos bagos, facto que pode explicar o menor peso e consequentemente uma menor compactação dos cachos, o terá contribuído para uma menor incidência, severidade e intensidade de podridão cinzenta nestas modalidades (Quadro 1). Resultados semelhantes foram observados por outros autores (PONI *et al.*, 2006; KOBLET *et al.*,

1994), os quais contrariam os observados por AFONSO (1996), ANDRADE (2003) e QUEIROZ *et al.* (2011).

No que respeita ao TAP não se verifica a existência de diferenças significativas entre modalidades, no entanto, observa-se que as modalidades desfolhadas apresentam valores tendencialmente superiores à testemunha não desfolhada (ND), podendo alguma desidratação dos bagos provocada pela maior exposição dos cachos explicar a maior concentração de açúcar. Nos parâmetros acidez total e pH também não se verificaram diferenças significativas entre as sete modalidades.

3.5- Rendimento e seus componentes

No Quadro 3 apresentam-se os dados do rendimento e deve referir-se que no respeitante ao número de cachos por cepa, a desfolha não influenciou de forma directa as diferenças observadas, no entanto, indirectamente pode-se admitir que a acção física da desfolha realizada à floração (FL1L e FL2L) poderá ter suprimido algumas inflorescências. A única modalidade que difere estatisticamente de ND é FL2L e, por outro lado as diferenças entre modalidades desfolhadas ao BC e P não foram provocadas pelas desfolhas, visto que os cachos já estavam formados e tinham uma maior resistência à acção física da remoção das folhas. Relativamente ao peso dos cachos ND apresenta os cachos mais pesados, diferindo estatisticamente de FL1L, FL2L e BC2L. Nas modalidades em que o peso dos cachos foi menor, a explicação para tal facto poderá recair na maior desidratação dos bagos, principalmente nas modalidades FL2L e BC2L. No caso especifico de BC2L um fraco desenvolvimento das netas poderá ter provocado um menor desenvolvimento dos bagos e, posteriormente uma maior exposição solar, o que terá dado origem a cachos mais leves. Em consequência do que foi descrito anteriormente, verifica-se que as modalidades ND, BC1L, P1L e P2L apresentam rendimento superior às restantes modalidades. Assim destaca-se que as desfolhas em P não reduziram estatisticamente a produção em relação a ND, resultados semelhantes foram verificados por BOTELHO (2007).

Quadro 3 - Influência das modalidades de desfolha no rendimento e seus componentes.

Modalidades	Nº Cachos/Cepa	Peso/Cacho (g)	Produção/Cepa (kg)	Rendimento (t/ha)
ND	29,5 ab	161,8 a	4,8 a	18,1 a
FL1L	25,8 abc	138,4 bc	3,6 b	13,7 b
FL2L	23,6 c	137,1 bc	3,2 b	12,3 b
BC1L	31,1 a	153,4 ab	4,8 a	18,1 a
BC2L	29,6 ab	117,1 c	3,4 b	12,9 b
P1L	28,3 abc	152,3 ab	4,3 ab	16,2 ab
P2L	25,6 bc	153,3 ab	3,0 ab	15,0 ab
Sig.	*	*	*	*

3.6- Análise físico-química e sensorial dos vinhos

Os resultados resumidos no Quadro 4 representam as análises aos vinhos, sem tratamento estatístico, devido à não realização de repetições. No que concerne ao grau alcoólico dos vinhos verifica-se uma tendência para as modalidades mais desfolhadas (FL2L, BC2L e P2L) revelarem um grau alcoólico superior, sendo que as desfolhas menos severas (FL1L, BC1L e P1L) apresentaram valores intermédios e a testemunha ND o resultado mais baixo. O ácido málico nos vinhos foi de modo geral reduzido pelas desfolhas, quando em comparação com a testemunha (ND). Quanto mais intensa foi a desfolha (FL2L, BC2L e P2L) maior foi a redução daquele ácido, o que é explicado devido à maior quantidade de cachos expostos durante a maturação. Na apreciação global dos vinhos não se observaram diferenças entre os vinhos, no entanto existe uma tendência para que os vinhos das modalidades desfolhadas (excepto FL2L e P1L) apresentarem melhores resultados, sendo os mais apreciados os vinhos BC2L e P2L.

Quadro 4 - Influência da intensidade e época de desfolha na análise físico-química e sensorial do vinho.

		Modalidades					
	ND	FL1L	FL2L	BC1L	BC2L	P1L	P2L
Grau Alcoólico (%v/v)	14,2	14,7	14,9	14,4	15,1	15,1	15,1
Acidez total (g ac. tar /l)	7,4	7,3	7,2	7,4	7,5	7,2	6,7
pH	3,20	3,22	3,21	3,19	3,19	3,24	3,29
Ácido málico (g/dm³)	1,9	1,6	1,5	1,5	1,3	1,6	1,3
Apreciação Global (0 a 20)	12,5	13,3	12,0	13,5	13,8	12,5	14,1

4- CONCLUSÕES

Não se verificaram diferenças significativas entre modalidades na evolução da área foliar, excepto na modalidade BC2L que apresentou uma área foliar significativamente mais baixa que ND, devido ao fraco desenvolvimento das netas. As desfolhas provocaram alterações significativas na densidade do coberto, levando a uma diminuição do número de camada de folhas (NCF) e consequentemente uma melhoria do microclima luminoso dos bagos. Essa melhoria foi tanto maior, quanto mais intensa foi a desfolha e nas épocas BC e P. Estes resultados reflectiram-se favoravelmente na diminuição da incidência, severidade e intensidade de Botrytis cinerea Pers., no entanto, apesar do excelente microclima na zona de frutificação nas modalidades desfolhadas ao pintor, observou-se ataque da doença, provavelmente devido à infecção pelo fungo ter ocorrido antes da desfolha. Como tal, pode-se concluir que a desfolha tardia foi menos eficaz no combate à podridão cinzenta. Verificou-se que as desfolhas nas épocas FL e BC reduziram a produção final, sendo que quanto maior a intensidade de desfolha, menor o rendimento final. Estes resultados são explicados pela redução do tamanho dos cachos e bagos. Apesar de não existirem diferenças significativas nos parâmetros qualitativos avaliados (pH, acidez total, TAP e ácido málico) constatou-se uma tendência para a desfolha provocar maior TAP. Observou-se uma certa tendência para que os vinhos provenientes das modalidades desfolhadas (excepto FL2L e P1L) apresentarem globalmente melhores resultados, destacando-se os vinhos BC2L e P2L.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFONSO, J. (1996). Influência da intensidade da desfolha na ecofisiologia e produtividade da videira (*Vitis vinifera* L.). Dissertação de Mestrado. Universidade do Porto Faculdade de Ciências e Universidade Técnica de Lisboa Instituto Superior de Agronomia. Porto, 131pp.
- AMARO, P.; RAPOSO, M.E. (2001). Relatório final do campo de demonstração de protecção integrada da vinha da região vitivinícola de Palmela (1996-2000). Instituto Superior de Agronomia/S.A.P.I., 25pp.
- ANDRADE, I. (2003). Efeito da intensidade da desfolha da videira (Vitis vinifera L.) na fotossíntese, na produção e na qualidade. Dissertação de Doutoramento. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa, 215pp.
- BOTELHO, M. (2007). Monda de cachos e densidade do coberto na casta Alfrocheiro na região do Dão. Dissertação de Mestrado. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa, 77pp.
- BRANAS, J. (1974). Viticulture. Ed. Dehan. Montpellier, 990pp.
- CALHAU, A. (2011). Efeitos da desfolha precoce e da monda de cachos no rendimento e qualidade de uvas e vinho na casta Cabernet Sauvignon. Dissertação de Mestrado. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa, 63pp.
- CASTRO, R.; CRUZ, A.; BOTELHO, M. (2006). Tecnologia Vitícola. Ministério da Agricultura, Pescas e Florestas/Direcção Geral de Agricultura da Beira Litoral/Comissão Vitivinícola da Bairrada, Coimbra, 160 pp.
- CHAMPAGNOL, F. (1984). Eléments de physiologie de la vigne et de viticulture general. Ed, Auteur, Montpellier, 351 pp.
- CHAVES, M. (1986). Fotossíntese e repartição dos produtos de assimilação em Vitis vinífera L. Dissertação de Doutoramento. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa, 220 pp.
- CLÍMACO, P.; RICARDO-DA-SILVA, J.; LAUREANO, O.; CASTRO, R.; TONIETTO, J. (2012).
 O Clima vitícola das principais regiões produtoras de uvas para vinho de Portugal. In: Clima, zonificación y typicidad del vino en regiones vitivinícolas Iberoamericanas. 315-357. Editores Técnicos: Jorge Tonietto, Vicente Sotés Ruiz e Vicente Gómez-Miguel. CYTED, Madrid.
- CLÍMACO,P.; CUNHA,J. (1986). Efeitos da desponta e da desfolha sobre a produção sobre a cv. "Carignan". Ciência Téc. Vitic.,5: 5-12.
- CORREIA, J. (2012). Efeito da época e da intensidade de desfolha na casta Sauvignon. Tese de Mestrado em Engenharia Agronómica, ISA/UTL, 91 pp.

- ENGLISH, J.T.; BLEDSOE, A. M.; MAROIS, J. J.; KLIEWER, W. M. (1990). Influence of grapevine canopy management on evaporative potential in the fruit zone. Am. J. Enol. Vitic., 41(2): 137-141.
- INTRIERI, C.; FILIPPETTI I.; ALLEGRO G.; CENTINARI M.; PONI, S. (2008). Early defoliation (hand vs mechanical) for improved crop control and grape composition in Sangiovese (*Vitis vinifera* L.). Australian Journal of Grape and Wine Research, 14(1): 25-32.
- KOBLET, W.; CANDOLFI-VASCONCELOS, M.C.; ZWEIFEL, W.; HOWELL, S. (1994). Influence of leaf removal, rootstocks, and training system on yield and fruit composition of Pinot Noir grapevines. Am. J. Enol. Vitic., 45(2): 184-187.
- LOPES, C.M.; PINTO, P.A. (2005). Easy and accurate estimation of grapevine leaf area with simple mathematical models. Vitis, 44(2):55-61.
- MAGALHÃES, N. (2008). Tratado de viticultura A videira, a vinha e o terroir. Chaves Ferreira Publicações. Lisboa, 605pp.
- PONI, S.; BERNIZZONI, F.; CIVARDI, S. (2008). The effect of early leaf removal on whole-canopy gas exchange and vine performance of *Vitis vinifera* L. 'Sangiovese'. Vitis, 47(1): 1-6.
- PONI, S.; CASALINI, L.; BERNIZZONI, F.; CIVARDI, S.; INTRIERI, C. (2006). Effects of early defoliation on shoot photosynthesis, yield components, and grape composition. Am. J. Enol. Vitic., 57(4): 397–407.
- QUEIROZ, J.; MACHADO, J.; GARRIDO, J.; MOTA, T. (2011). Effect of early leaf removal on yield and quality of must and wine in the white cv, Loureiro (*Vitis vinifera* L.) Vinhos Verdes region. 17th International GiESCO Symposium. Asti-Alba, Italy, 571-572.
- RODRIGUES, C. (2009). Estratégias de gestão do coberto vegetal e da produção na casta Touriga-Nacional na Região do Dão. Dissertação de Mestrado. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa, 78 pp.
- SMART, R. E.; ROBINSON, M. (1991). Sunlight into wine. A Handbook for Winegrape Canopy Management. Winetitles. Adelaide, 88 pp.

SOMBREAMENTO PARCIAL DO COPADO DA VINHA: ALTERAÇÕES NAS COMPONENTES DA PRODUÇÃO E CARACTERÍSTICAS DOS MOSTOS

Esta comunicação foi patrocinada pela COTESI - Companhia de Têxteis Sintéticos, SA

Teles J.M.¹; Barbosa P.²; Olazabal F.³; Queiroz J.⁴; Oliveira M.⁵

RESUMO

Na sub-região do Douro Superior da Região Demarcada do Douro no Nordeste de Portugal as vinhas desenvolvem-se sob elevado nível de stress devido a baixa precipitação, radiação solar intensa e elevada temperatura média do ar. É frequente a ocorrência de forte dessecação dos bagos com consequente perda de rendimento e indesejáveis características dos mostos.

Formulamos a hipótese que o sombreamento parcial do copado pode reduzir a dessecação dos bagos e alterar as características dos mostos e estabelecemos um campo experimental no Alto Douro numa vinha de Touriga nacional em 2010. Verificamos, em resultados já publicados que o sombreamento alterava a área foliar, reduzia as perdas de produção mas diminuía a concentração de antocianas no mosto.

Em 2012 acrescentamos uma dotação moderada de rega da floração ao pintor. Estes últimos resultados são agora apresentados e discutidos. O sombreamento resultou em alterações significativas na morfologia das plantas e na produção. Houve redução significativa do número de bagos desidratados mas os mostos não apresentaram características significativamente diferentes. As plantas regadas tiveram um número significativamente mais elevado de bagos desidratados com redução da produção.

Palavras-chave: Sombreamento, Vinha, Produção, Mosto

¹ DGAOT - Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. josemiguelteles@gmail.com

² Quinta do Vale Meão, Vila Nova de Foz Coa. p.b@quintadovalemeao.pt

³ Quinta do Vale Meão, Vila Nova de Foz Coa. f.o@quintadovalemeao.pt

 $^{^4}$ DGAOT - Faculdade de Ciências Universidade do Porto, REQUIMTE Laboratório Associado. jqueiroz@fc.up.pt

⁵ CITAB – Agronomia, UTAD. Vila Real. mto@utad.pt

1 - INTRODUÇÃO

A estação de crescimento das videiras na Região Demarcada do Douro (RDD) apresenta elevados valores de radiação solar, baixa precipitação, elevada temperatura média do ar e baixa humidade relativa (APA, 2009). A radiação solar é um factor de primordial importância na morfologia e fisiologia da planta (Pollastrini *et al.*, 2011), e o seu efeito conjunto com altas temperaturas pode ter efeitos negativos na fotossíntese e na assimilação do carbono com efeito nos rendimentos, a composição dos mostos e as características dos vinhos (Cartechin e Pallioti, 1995; Greer e Weedon, 2012). A redução do rendimento pode ocorrer também por queimadura e desidratação dos bagos (Chorti *et al.*, 2010; Krasnow *et al.*, 2010). Nas condições de stress, o sombreamento das videiras pode ser benéfico porque a fotossíntese é mais eficiente sob luz difusa e esta penetra melhor no copado (Petrie *et al.*, 2009). Por outro lado, as videiras regadas moderadamente podem evitar as piores consequências do elevado stress hídrico como perda acentuada de rendimento e mostos com características indesejáveis (Sofo *et al.*, 2012).

A hipótese que o sombreamento parcial do copado pode reduzir as perdas de rendimento e melhorar as características dos mostos foi testada num campo experimental do Douro Superior a partir de 2010. Em 2012, a vinha para além de parcialmente sombreada foi também regada e os resultados deste ano são apresentados e discutidos.

2 - MATERIAIS E MÉTODOS

O campo experimental foi instalado numa vinha comercial (*Vitis vinífera* L., *cv Touriga nacional*) com 27 anos na Região Demarcada do Douro (RDD) (41° 08' Norte, 7° 08' Oeste) na Quinta do Vale Meão. A vinha está numa encosta de declive suave, os bardos orientados Este-Oeste, espaçados de 2 metros com 1 metro entre videiras na linha. Quando o copado está plenamente desenvolvido, a sebe é mantida por desponta a 1,6 metros de altura e 0,6 a 0,8 metros de largura. As infestantes são controladas por mobilização superficial do abrolhamento à vindima. Dez bardos foram escolhidos aleatoriamente para serem sombreados da floração à maturação (S_f), outros dez do pintor à maturação (S_p) e outros tantos serviram como testemunha não sombreada (S_o). Um igual número de bardos, mas sempre afastados pelo menos de duas linhas contíguas dos anteriores, foram sombreados nos mesmos períodos (S_{fr} e S_{pr}) e também regados à taxa de

4 mm por dia da floração ao pintor, existindo uma testemunha regada mas não sombreada (S_{or}).

O sombreamento foi conseguido por uma tela plástica de rede branca (Marca COTESI "MOVPROTECT", tecido cosido produzido de monofilamentos transparentes de HDPE, estabilizados para a radiação ultravioleta) que pode reduzir a radiação total (kW m⁻²) em 23% e a PAR (mmol s⁻¹) em 27%. A tela foi colocada verticalmente e adjacente ao terço inferior do copado.

A cerca de 15 dias antes da provável ocorrência do pintor, ao pintor e a 15 dias após o pintor foram feitas as seguintes determinações ao meio dia solar: volume do copado, condutância estomática (porómetro AP4 Delta Devices), potencial hídrico foliar (câmara de Scholander SoilTest) e temperatura das folhas e bagos (termómetro de infravermelhos Raytemp 8). À maturação, dez videiras de cada tratamento foram escolhidas aleatoriamente para determinação da área foliar, do número de cachos, do seu peso e da percentagem de bagos desidratados. Dos mesmos cachos retiraram-se três amostras para medição do volume e peso de bagos e para medição em laboratório (OIV, 2005) do pH, álcool provável, ácido tartárico, ácido málico, antocianas totais, índice de polifenois, glucose e frutose. A disposição estatística é completamente aleatória, a análise factorial dos tratamentos como factor fixo e separação de médias pelo método de Tukey.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

O sombreamento das plantas não resultou numa diferença significativa no desenvolvimento do copado avaliado pelo seu volume (fíg.1), no entanto, as plantas regadas e, particularmente as sombreadas da floração à maturação, desenvolveram o copado mais volumoso.

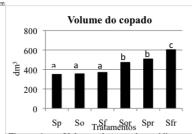


Figura 1 – Volume do copado médio entre tratamentos de sombreamento e rega. Quinta do Vale Meão 2012. A mesma letra em supre escrito indica diferença não significativa (Tukey_{nos})

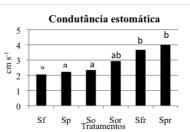
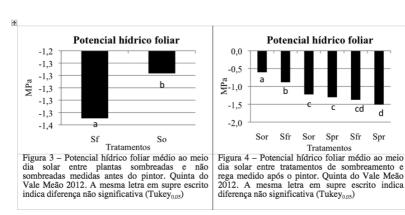


Figura 2 – Condutância estomática média entre tratamentos de sombreamento e rega. Quinta do Vale Meão 2012. A mesma letra em supre escrito indica diferença não significativa (Tukey_{0,0x})

A rega foi o factor determinante na dimensão do copado pois a maior disponibilidade de água aumenta o crescimento vegetativo (Intrigliolo e Castel, 2008) e o efeito parece ter sido incrementado pela redução da radiação que atingiu o copado pois as condições de menor luminosidade estimulam o crescimento dos pâmpanos e a expansão da área foliar (Keller *et al.*, 1998).

A resposta fisiológica das videiras às condições de sombreamento e rega foi influenciada sobretudo pela disponibilidade de água no solo. A condutância estomática (fig.2) foi sempre significativamente superior nas plantas regadas do que nas não regadas e o sombreamento não se traduziu em condutância estomática diferente entre tratamentos. A condutância estomática é função de condições meteorológicas (Habermann *et al.*, 2003) e da disponibilidade de água no solo (Assmann, 2003).

O potencial hídrico foliar revelou um comportamento diferente quando medido antes ou após o pintor. Na medição pré-pintor (fig.3) as plantas sombreadas tiveram um potencial mais baixo que as testemunhas.



O potencial medido em data posterior ao pintor mostrou um valor mais elevado para as plantas regadas mas um comportamento sem tendência definida para as plantas sombreadas (fig.4).

A relação directa entre o potencial hídrico das folhas e o teor de água no solo foi demonstrado em vários outros trabalhos de investigação (Ezzahouani e Williams, 2007). Os

resultados aqui expressos em relação ao sombreamento não encontram paralelo na bibliografía e necessitam de novas observações para serem confirmados.

A temperatura das folhas durante o dia está relacionada com a transpiração e esta é função também das disponibilidades hídricas do solo (Gates, 1968; Williams e Baeza, 2007). As plantas regadas mostraram uma temperatura média das folhas significativamente mais baixa que as plantas não regadas e não se verificou diferença significativa entre plantas sombreadas e não sombreadas (fig.5).

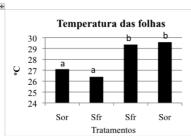


Figura 5 – Temperatura média das folhas ao meio dia solar entre tratamentos de sombreamento e rega. Quinta do Vale Meão 2012. A mesma letra em supre escrito indica diferença não significativa (Tukey_{0.05})



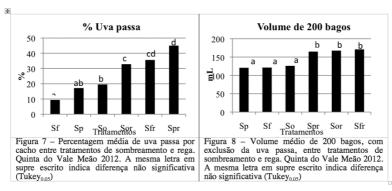
Figura 6 – Produção média por videira entre tratamentos de sombreamento e rega. Quinta do Vale Meão 2012. A mesma letra em supre escrito indica diferença não significativa (Tukey_{0,05})

A temperatura média dos bagos ao meio dia solar foi de 30,2 °C sem diferenças significativas entre tratamentos.

A produção por videira mostrou que o sombreamento das plantas não regadas, sobretudo o tratamento que reduz a incidência da radiação por um período mais longo (S_f) , é mais elevado que a das plantas sem sombreamento (fig.6), resultado que já tinha sido observado em anos anteriores (Oliveira *et al.*, 2011). Contudo, contrariamente ao que foi reportado por outros autores (Myburgh, 2012; EI-Khawaga, 2013), os tratamentos com rega tiveram uma redução significativa de produção.

As diferenças de produção não podem ser atribuídas ao número de cachos por planta que foi em média de 16 sem diferenças significativas entre tratamentos, mas podem ser devidas ao número de uvas passas presentes nos cachos (fig.7). O sombreamento reduz a incidência directa de radiação solar nos bagos e protege-os de queimaduras e de desidratação (Chorti *et al.*, 2010; Krasnow *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2011). O aumento

significativo de uvas passas nos cachos de plantas regadas pode estar relacionado com a suspensão da rega após o pintor porque, em plantas regadas, o bago aumenta de volume (Sofo *et al.*, 2012) mas a suspensão da rega feita numa fase em que o bago compete pela água com os outros órgãos da planta (Intrigliolo e Castel, 2007), sobretudo se houver uma demanda de água elevada pela atmosfera, não permite manter o volume elevado dos bagos e as perdas foram grandes. Nas plantas não regadas, os bagos cresceram menos ao longo do ciclo e as disponibilidades hídricas existentes permitiram manter o volume já alcançado na maioria dos bagos. A redução da produção causada por rega insuficiente no pós-pintor também foi observada por outros autores (Basile *et al.*, 2012).



Excluindo as uvas passas, o volume de 200 bagos (fig.8) foi significativamente maior nas plantas regadas, sem diferenças significativas entre plantas sombreadas e não sombreadas, o que confere credibilidade à explicação apresentada acima.

As análises do mosto encontra-se na tabela 1 e não se verificaram diferenças significativas entre tratamentos.

Tabela 1. Características dos mostos à vindima. Quinta do Vale Meão 2012.

pH	3,70
Alcool provável (% vol.)	13,90
Acido tartárico (mg L ⁻¹)	4,63
Acido málico (mg L ⁻¹)	1,40
Antocianas (mg L ⁻¹)	1,07
Indice de polifenois	74,45
Glucose (g L-1)	125,30
Frutose (g L ⁻¹)	126,30

Estes resultados de 2012 divergem dos obtidos em anos anteriores (Oliveira *et al.*, 2011) e noutros trabalhos (Chorti *et al.*, 2010) mas devem ser lidos com reserva porque as condições climáticas num ano em particular podem ter uma influência dominante sobre as técnicas de gestão da vinha (van Leeuwen *et al.*, 2004; Girona *et al.*, 2006).

4 - CONCLUSÕES

O sombreamento parcial do copado reduz as perdas de rendimento da videira porque protege os bagos da desidratação e das queimaduras por excesso de radiação solar incidente.

A rega pode ter efeitos contrários aos esperados se for suspensa durante um período de elevadas exigências hídricas após as plantas terem alcançado um nível de produção que não pode ser mantido com as reservas de água existentes.

AGRADECIMENTOS

COTESI - Companhia de Têxteis Sintéticos, SA

Eng.º. Rui Marques

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APA [Agência Portuguesa do Ambiente], 2009. Atlas do ambiente. http://www.iambiente.pt/atlas/dl/download.jsp?zona=continente&grupo=&tema=c_ph. Accessed 11 February 2013.
- Assmann, S.M. 2003. OPEN STOMATA1 opens the door to ABA signalling in Arabidopsis guard cells. *Trends Plant Sci.* 8:151-153.
- Basile, B., Girona, J., Behboudian, M.H., Mata, M., Rosello, J., Ferré, M., Marsal, J. 2012. Responses of "Chardonnay" to deficit irrigation applied at different phenological stages: vine growth, must composition, and wine quality. *Irrig. Sci.* 30:397-406.
- Cartechin A., Pallioti A., 1995. Effect of shading on vine morphology and productivity and leaf gas exchange characteristics in grapevines in the field. Am. J. Enol. Vitic., 46: 227-234.
- Chorti, E., Guidoni, S., Ferrandino, A., Novello, V. 2010. Effect of different cluster sunlight exposure levelson ripening and anthocyanin accumulation in Nebbiolo grapes. Am. J. Enol. Vitic. 61:1-4.
- EI-Khawaga, A.S. 2013. Promoting irrigation water utilization efficiency in superior vineyards. *Asian J. Crop Sci.*, DOI: 1O.3923/ajcs.2013.
- Ezzahouani, A., Williams, L.E. 2007. Effect of irrigation amount and preharvest irrigation cutoff date on vine water status and productivity of danlas grapevines. Am. J. Enol. Vitic., 58:333-340.
- Gates, D.M. 1968. Transpiration and leaf temperature. Annual Rev. Plant Physiol. 19: 211-238.
- Girona, J., Mata, M., del Campo, J., Arbones, A., Bartra, E., Marsal, J. 2006. The use of midday leaf water potential for scheduling deficit irrigation in vineyards. *Irrig. Sci.* 24:115-127.
- Greer, D.H., Weedon, M.M., 2012. Interactions between light and growing season temperatures on, growth and development and gas exchange of Semillon (*Vitis vinifera* L.) vines grown in an irrigated vineyard. *Plant Phys. Bioch.* 54:59-69.
- Habermann. H., Machado, E.C., Rodrigues, J.D., Medina, C.L. 2003 Gas exchange rates at different vapor pressure deficits and water relations of 'Pera' sweet orange plants with citrus variegated chlorosis (CVC). Sci. Hortic. 98, 233-245.
- Intrigliolo, D.S., Castel, J.R. 2007. Evaluation of grapevine water status from trunk diameter variations. *Irrig. Sci.* 26:49-59.
- Intrigliolo, D.S., Castel, J.R. 2008. Effects of irrigation on the performance of grapevine cv. Tempranillo in Requena, Spain. Am. J. Enol. Vitic. 59: 30-38.
- Keller, M., Arnink, K.J., Hrazdina, G. 1998. Interaction of nitrogen availability during bloom and light intensity during veraison. I. Effects on grapevine growth, fruit development, and ripening. Am. J. Enol. Vitic. 49: 333-340.

- Krasnow, M., Matthews, M.A., Smith, R.J., Benz, J., Weber, E., Shackel, K.A., 2010. Distinctive symptoms differentiate four common types of berry shrivel disorder in grape. *California Agric*. 64:155-159.
- Myburgh, P.A. 2012. Comparing irrigation systems and strategies for table grapes in the weathered granite-gneiss soils of the Lower Orange River Region. S. Afr. J. Enol. Vitic. 33:184-197.
- OIV (2005) International Oenological Codex. OIV: Paris.
- Oliveira, M., Barbosa, P., Olazabal, F. 2011. Grapevine shading: reducing yield loss and changing must composition in Douro. Proceedings of the 34th World Congress of Vine and Wine. Porto, Portugal, 20th -28th June.
- Petrie P., Trought M., Howell G., Buchan G., Palmer J. 2009. Whole-canopy gas exchange and light interception of vertically trained *Vitis vinifera* L. under direct and diffuse light. *Am. J. Enol. Vitic.*, 60: 173-182.
- Pollastrini M., Di Stefano V., Ferretti M., Agati G., Grifonie D., Zipoli G., Orlandini S., Bussotti F. 2011. Influence of different light intensity regimes on leaf features of *Vitis vinifera* L. in ultraviolet radiation filtered condition. *Environ. Exper. Bot.* 73: 108-115.
- Sofo, A., Nuzzo, V., Tataranni, G., Manfra, M., De Nisco, M., Scopa, A. 2012. Berry morphology and composition in irrigated and non-irrigated grapevine (*Vitis vinifera L.*). *J. Plant Physiol*. 169:1023-1031.
- van Leeuwen, C., Friant, P., Choné, X., Tregoat, O., Koundouras, S., Dubourdieu, D. 2004. Influence of climate soil and cultivar on terroir. *Am. J. Enol. Vitic.*, 55:207–217.
- Williams, L.E., Baeza, P. 2007. Relationships among ambient temperature and vapor pressure deficit and leaf and stem water potentials of fully Irrigated, field-grown grapevines. Am. J. Enol. Vitic., 58:173-181.

RESISTÊNCIA AO GLIFOSATO EM VINHAS DO DOURO

João PORTUGAL ¹; Isabel M. CALHA ²; F GONZALEZ-TORRALVA ³; R ROLDAN ³; R DEPRADO ³

RESUMO

O glifosato é o herbicida mais aplicado a nível nacional, sendo, portanto, elevado o risco de aparecimento de resistência a este herbicida. Neste trabalho apresentam-se os resultados da primeira prospecção de resistência ao glifosato em vinhas nacionais, através da determinação do fator de resistência (FR= ED₅₀ população R/ED₅₀ população S), tendo-se analisado três populações de *Lolium perenne* de vinhas localizadas no Douro (Régua e Pinhão). A resistência foi confirmada nas duas vinhas localizadas na Régua (FR= 2), sendo susceptível (FR=1) a população do Pinhão. Experimentação de campo realizada numa vinha com população resistente (oito modalidades com três repetições) permitiu verificar que a sequência de duas aplicações, a primeira (3-6 folhas) com cicloxidime (100 g. s.a ha⁻¹) ou com quizalofope-P-etilo (125 g. s.a ha⁻¹) e a segunda (afilhamento) com glifosato (1800 g.e.a ha⁻¹) teve eficácia superior a 98%.

Palavras - chave: Ensaio de dose-resposta, factor de resistência, herbicidas alternativos

1 - INTRODUCÃO

A prática corrente de gestão do coberto do solo em vinhas consiste na aplicação de herbicidas na linha e enrelvamento (vegetação residente) com corte na entrelinha (MONTEIRO & MOREIRA, 2004). O recurso exclusivo a herbicidas na linha tem várias desvantagens, para além do impacte ambiental também a ocorrência de resistência adquirida a herbicidas. O glifosato é o herbicida mais importante para o controlo de infestantes em culturas perenes a nível mundial. Durante mais de 20 anos o glifosato foi considerado um herbicida de baixo risco de resistência (DUKE & POWLES, 2008), todavia a aplicação consecutiva deste herbicida em pastagens da Austrália conduziu ao primeiro caso de resistência em *Lolium rigidum* (PRATLEY *et al.*, 1996).

Actualmente conhecem-se 24 espécies de plantas infestantes com resistência ao glifosato, correspondentes a 168 populações diferentes (HEAP, 2013). Destas, mais de metade

estão associadas a culturas geneticamente modificadas no continente Americano. Na Europa e noutros continentes são as culturas perenes, designadamente o olival e a vinha na zona mediterrânica que apresentam maior número de casos de resistência (COLLAVO et al., 2009b). Em vinha, a resistência ao glifosato foi confirmada em *Lolium multiflorum* Lam. e *Lolium rigidum* Gaud. (CRUZ-HIPÓLITO et al., 2007; FAVIER & GAUVRIT 2007; COLLAVO et al., 2009a) e no olival em *Conyza bonariensis* L. (URBANO et al., 2005), *Conyza canadensis* L. (MARTINEZ & URBANO, 2007) e *Conyza sumatrensis* (Retz.) E. Walker. Situações de risco estão associadas à elevada pressão de seleção imposta pela aplicação de glifosato durante mais de 10 anos no mesmo local, muitas vezes mais de uma vez por ano (HEAP, 2013). As estratégias de prevenção de resistência, seguindo os princípios da proteção integrada, preconizam a diversidade das técnicas de controlo das infestantes e, no que respeita aos herbicidas, a alternância de modos de ação (FISCHER, 2011).

Também a nível nacional o glifosato se destaca, representando 70% das vendas de herbicidas (ABREU, 2010) sendo, portanto, elevado o risco de aparecimento de resistência a este herbicida. Recentemente foi confirmada a resistência adquirida ao glifosato em olivais do Alentejo e numa vinha do Douro (CALHA & OSUNA, 2010; PORTUGAL et al., 2011). Para avaliar a dimensão do problema efetuou-se uma primeira prospeção em Julho de 2011 em três vinhas do Douro onde a eficácia do glifosato tinha sido baixa sobre *L. perenne*. Nesta comunicação apresentam-se os resultados de ensaios dose-resposta, para determinação do fator de resistência, das populações amostradas, e também os resultados de um ensaio de campo que visou o estudo de herbicidas alternativos ao glifosato no controlo de populações resistentes de *L. perenne*.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Ensaios de dose-resposta com planta inteira

Material vegetal

Os ensaios de dose-resposta ao glifosato foram realizados com três amostras de sementes de *L. perenne* suspeitas de resistência. As amostras foram colhidas em Julho de 2011 em vinhas localizadas na Régua (L1 e L2) e no Pinhão (L3). Utilizou-se como referência uma população susceptível (S) da mesma espécie, com origem no Alentejo.

Aplicação de herbicida

Os ensaios foram realizados em estufa climatizada do INRB-LINIA e decorreram de Dezembro de 2011 a Marco de 2012. Procedeu-se à sementeira em vasos de PVC de 7 cm de diâmetro e 10 cm de profundidade (5-6 sementes por vaso, para se obterem 2-4 plântulas por vaso), com substrato de terra:turfa:areia (2:1:1) adubado com BLAUKORC (20 g v/v). A rega foi efetuada por subirrigação, quando necessário. O herbicida glifosato (RoundUp Ultra, 360 g e.a.L-1, SL, Bayer) foi aplicado em plantas com 6 a 8 folhas (BBCH 16-18) numa escala logarítmica (0, 45, 90, 180, 360, 720 e 1.440 g e.a. ha⁻¹) com um OPS (Oxford Precision System) calibrado para aplicar 200 L ha⁻¹ herbicida (275 kPa). As plantas foram cortadas à superfície do solo e registou-se o peso verde e a percentagem de sobrevivência, 21 dias após a aplicação (DAA). A duração dos ensaios foi de 60 dias. As temperaturas variaram de 7 a 22 °C no mês mais frio (Janeiro de 2012) e de 10 a 30 °C no mês mais quente (Março 2012). Os resultados de peso verde por população e ensaio foram analisados por ANOVA e fez-se a comparação de médias (teste de Newman's-Keuls). Posteriormente ajustou-se um modelo de regressão não-linear do tipo logístico (1) (SEEFELDT et al., 1995; KNEZEVIC et al., 2007) aos resultados (expressos em percentagem da testemunha), o que permitiu estimar o valor de ED₅₀ (dose que provoca a redução de 50% do peso verde relativamente à testemunha) para cada população e calcular o respetivo fator de resistência (FR= ED₅₀ R/ED₅₀ S).

Y=f(x)=
$$c + \frac{d-c}{(1 + (x/ED50)_{b}, (1))}$$

em que Y, corresponde ao peso verde (g); x, à dose (g e.a.ha⁻¹). d e c, correspondem às assíntotas superior e inferior da curva, respetivamente e b, ao declive da curva de doseresposta obtido ao nível do valor de ED₅₀ (ponto de inflexão da curva).

2.2 - Ensaios de campo

O ensaio de campo foi instalado numa vinha localizada no concelho de Sta. Marta de Penaguião (41,27 N; 7,73 W) - Baixo Corgo, Douro - para avaliar a eficácia de herbicidas

de pós-emergência sobre *L. perenne*. O registo de 30 anos para a temperatura e precipitação na Régua foi de 15,5 °C e 855 mm, respetivamente (PEDROSO *et al.*, 2004). O delineamento experimental em blocos casualizados de 9 modalidades e 3 repetições (parcelas de 10 x 2 m) foi implementado em Janeiro de 2012. No Quadro 1 indicam-se as modalidades de ensaio. O ensaio incluiu modalidades com uma única aplicação de herbicida (glifosato em duas doses diferentes) e modalidades com duas aplicações de herbicida (foliar ou residual seguido por glifosato). A aplicação foi realizada com pulverizador de dorso (*Pulvexper*), equipado com uma lança com um bico do tipo *TeeJet*, debitando 300 L ha⁻¹ a 200 kPa. Uma testemunha, sem aplicação foi incluído para comparação.

Quadro 1- Modalidades do ensaio de campo com herbicidas

Modalidade	Herbicida	Formulação	Substância ativa	MOA ⁽¹⁾	Dose
		,			(g ha ⁻¹)
1			Testemunha		
2	MON 79351	480 g L ⁻¹ , SL	glifosato	G	720
3	MON 79351	480 g L-1, SL	glifosato	G	1800
4	ETIZOL TL + MON 79351	240 g L ⁻¹ + 210 g L ⁻¹ , EC	(amitrol + TA ⁽²⁾ + glifosato	F3+G	1,44 + 1800
5	CENTURION PLUS	120 g L ⁻¹ , EC	cletodime	A	100
6	FOCUS ULTRA	100 g L-1, EC	cicloxidime	A	250
7	FLUASIBEL	125 g L-1, EC	fluazifope-P- butilo	Α	250
8	TERAFIT	250 g L-1, WG	flazasulfurão	В	50
9	MASTER D	50 g L ⁻¹ , EC	quizalofope -etilo	A	125

(1) Modo de ação (CALHA & ROCHA, 2000) de acordo com o código HRAC (1998).

⁽²TA – tiocianato de amónio.

À data da primeira aplicação (08/12/2011), as plantas de *L. perenne* estavam com 3-6 folhas. A segunda aplicação com glifosato (15/02/2012) foi feita ao afilhamento. A eficácia, por estimativa visual, foi avaliada aos 30-60-90-120 dias após a aplicação DAA.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 - Ensaios de dose-resposta com planta inteira

Verificou-se um aumento da mortalidade das plantas com o incremento da dose na população susceptível. Aos 90 g e.a. ha⁻¹, registou-se uma taxa de mortalidade de 25%, seguida de 50% para as doses de 180 e 360 g e.a. ha⁻¹ e 100% nas doses mais elevadas. Pelo contrário, nas populações resistentes (R), registaram-se taxas de mortalidade entre 25 e 50% apenas na dose mais elevada, para as populações L2 e L3, respetivamente.

A resposta de *L. perenne*, a doses crescentes de glifosato, expressa em percentagem de peso verde, seguiu uma curva log-logística (Figura 1).

Com base nos resultados do peso verde obtidos para cada população, por ensaio, ajustou-se um modelo de regressão não linear, do tipo log-logístico com quatro parâmetros, representados na figura 1 pelas respetivas curvas de dose-resposta, o que permitiu determinar o valor de ED₅₀ do glifosato, e respetivo fator de resistência (FR) para cada população (Quadro 2).

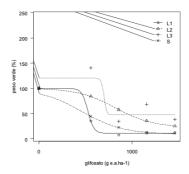


Figura 1 – Curvas de dose-resposta ao glifosato de três populações de *Lolium perenne* (L1 a L3), comparativamente a uma população suscetível da mesma espécie (S).

Os valores de ED₅₀ variaram entre 273,5 g e.a. ha⁻¹ na população S e 334, 670 e 485 g e.a. ha⁻¹ nas populações L1, L2 e L3, respetivamente, a que correspondiam fatores de resistência (FR) de 1, 2, 45 e 2 (Quadro 2).

Quadro 2 – Valores de ED_{50} (e respectivo erro padrão-SE) obtidos em cada ensaio de aplicação de glifosato para três populações de *Lolium perenne* (L1, L2 e L3), comparativamente a uma população suscetível (S) e correspondentes fatores de resistência (FR)

População	EI	O ₅₀	FR
	(g e.a. ha ⁻¹)	SE	$(ED_{50} R/ ED_{50} S)$
S	273,5	183.72	-
L1	334,0	145	1
L2	670,0	145,39	2,45
L3	485,0	1655,73	2

Os resultados obtidos foram confirmados com a determinação do shiquimato em ensaio de laboratório (dados não mostrados).

3.2 - Ensaios de campo

No ensaio predominava a espécie *L. perenne*, embora também estivessem presentes outras espécies de *Lolium (L. multiflorum e L. rigidum)* e dicotiledóneas anuais, designadamente, *Asteraceae (Andryala integrifolia L., Anthemis arvensis L, Coleostephus myconis* (L.) Reichenb.fil., *Pseudognaphalium luteo-album* (L.) Hilliard & B.L.Burtt, *Senecio vulgaris* L., *Sonchus oleraceus* L.); *Polygonaceae (Polygonum aviculare* L.); *Lamiaceae (Lamium amplexicaule* L.); *Fabaceae (Trifolium resupinatum* L.); *Primulaceae (Anagallis arvensis* L.) e *Scrophulariaceae (Kickxia spuria* (L.) Dumort, *Misopates orontium* (L.) Rafin) e uma vivaz *Convolvulus arvensis* L. (*Convolvulaceae*).

Primeira aplicação (pós-emergência)

Na Figura 2 e Quadro 3 apresentam-se os resultados da estimativa visual da eficácia, registados. Aos 60 DAA, antes da segunda aplicação do glifosato verificou-se que o glifosato não foi eficaz sobre *Lolium* spp. em ambas as doses: 17,5%, (720 g e.a. ha⁻¹) e 69,2% (1.800 g e.a. ha⁻¹), confirmando a presença de populações resistentes ao glifosato (GR) no campo. A eficácia dos herbicidas inibidores da enzima ACCase (HRAC-A) dependia da família química: a eficácia de cicloxidime e cletodime (ariloxifenoxi propionatos) foi superior a 85,5%; enquanto para ciclohexanodiona/oximas dependia também da s.a.: para o quizalofope-P-etilo obteve-se eficácia satisfatória (95,6%), mas o fluazifope-P-butilo não foi eficaz (73,3%). No que respeita aos herbicidas residuais, o flazassulfurão (50 g ha⁻¹) foi eficaz (89%), mas a mistura amitrol + TA+ glifosato (1,44 g ha⁻¹ + 1.800 g e.a.ha⁻¹) não o foi (72,5%). A eficácia aumentou de 30 para 60 DAA para todas as modalidades exceto para o glifosato.

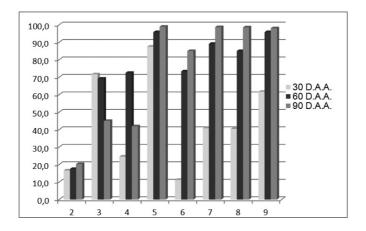


Figura 2 – Avaliação da eficácia (%) registada 30, 60 e 90 DAA para oito modalidades (2 a 9), na população de *Lolium* spp.

Segunda aplicação (pós-emergência)

Noventa dias após a primeira aplicação, houve uma redução na eficácia das modalidades em que a segunda aplicação com glifosato não foi realizada.

Para a dose mais baixa de glifosato (2), a eficácia permaneceu inaceitável (20%), no entanto nas modalidades (3) (dose mais elevada de glifosato) e (4) (amitrol + TA+glifosato) verificou-se uma redução da eficácia de 20-30%. Estes dados podem confirmar a necessidade de se proceder a uma segunda aplicação com o glifosato, para aumentar a eficácia. Para as outras modalidades, a segunda aplicação de glifosato contribuiu para aumentar a eficácia, embora o efeito não tenha sido sempre significativo. No caso das modalidades (5) (cicloxidime) e (8) (quizalofope-P-etilo), que registaram a maior eficácia aos 60 DAA, como a biomassa que permaneceu no solo era muito baixa, não se verificou um aumento significativo no controlo de *Lolium*, aos 90 DAA.

Quadro 3 - Suscetibilidade de Lolium sp. a diferentes herbicidas - (eficácia em % da testemunha)

Modalidade	Herbicida	Dose	Primeira aplicação		Segunda aplicação *		
	(s.a.)	(g ha ⁻¹)	30	60	90	30	60
			DAA	DAA	DAA	DAA	DAA
2	glifosato	720	16,7	17,5	20,3	-	-
3	glifosato	1800	71,7	69,2	45,0	-	-
4	amitrol + glifosato	1,44 + 1800	24,6	72,5	41,9	-	-
5	cicloxidime *	100	87,5	95,8	-	98,9	
6	fluazifope-P-butilo*	250	11,3	73,3	-	85,0	
7	flazasulfurão*	250	40,8	89,2	-	98,7	
8	cletodime *	50	40,4	85,0	-	98,5	
9	quizalofope-etilo *	125	61,7	95,8	-	98,0	

^{* 2}ª aplicação com glifosato (1800 g ha-1) nas modalidades 5, 6, 7, 8 e 9.

Para o flazassulfurão (7) e o cletodime (8) a segunda aplicação com glifosato permitiu atingir aumentos significativos da eficácia de 85-89% para valores da ordem dos 99%. No entanto, para o fluazifope-P-butilo, a eficácia permaneceu baixa, mesmo com o incremento de 10% no controlo de *Lolium*. Faz-se notar que são conhecidos casos de resistência múltipla que envolvem os herbicidas glifosato e fluazifope-P-butilo (HEAP, 2013), o que pode explicar a reduzida eficácia do herbicida na população GR, aspecto que carece de confirmação posterior.

4. CONCLUSÃO

Os ensaios de dose-resposta permitiram confirmar a resistência ao glifosato de duas populações de *Lolium perenne*: As populações da região da Régua (L2 e L3) foram confirmadas como resistentes ao glifosato, com FR entre 2 e 3, respetivamente. A população L1, proveniente do Pinhão, foi considerada suscetível ao glifosato.

Na experimentação de campo, obtiveram-se resultados promissores apesar de se tratar do primeiro ano de ensaio. Estratégias de gestão com programas de herbicidas que combinem glifosato com herbicidas com diferentes modos de ação (MOA) como o cicloxidime, o quizalofope-etilo (inibidores da ACCase - HRAC-A) ou o flazassulfurão (inibidores da ALS - HRAC-B) podem ser alternativas eficazes para o controlo de populações de *L. perenne* resistentes ao glifosato em vinha.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi parcialmente financiado pelo protocolo Univ Cordova - Monsanto. Os autores agradecem a Teresa Vasconcelos, do ISA/UTL, a preciosa ajuda na identificação

das espécies de *Lolium*; a Maria de Lurdes Silva, do INIAV, a disponibilidade e dedicação na manutenção dos ensaios de estufa e a Pedro Ramos, da Bayer CropScience Portugal, pela excelente assistência a nível regional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU JV (2011). Vendas de Produtos Fitofarmacêuticos em Portugal em 2010. DGADR, Lisboa, 21 pp.
- DUKE SO & POWLES SB (2008). Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Management Science* 64:319–325.
- CALHA IM & PORTUGAL J (2012) Glyphosate resistance status and potential solutions in Portugal Actas Intern Workshop "European Status and Solutions for Glyphosate Resistance": 2-4 May, Cordoba, Spain.
- CALHA, IM & OSUNA MD (2010). Herbicide Weed Resistance in Portuguese Olive Groves. AFPP – 21st COLUMA Conf - Intern Meeting On Weed Control, Dijon – 8, 9 Dez.
- CALHA IM & ROCHA F (2002). Modo de acção dos herbicidas e prevenção da resistência adquirida. Revista de Ciências Agrárias 25: 88-103.
- COLLAVO A, BARBIERI G, SATTIN M, DEPRADO R (2009a) Glyphosate resistance of two Italian Lolium populations, 541-544, *in*: Sousa E *et al.* (eds) *Herbologia e Biodiversidade numa Agricultura Sustentável* Vol 2. IsaPress. 452 pp.
- COLLAVO A, GAUVRIT C, MUELLER N, SATTIN M, DEPRADO R (2009b). Glyphosate resistant weeds in Europe: a review: 473-476. *in:* Sousa E *et al.* (eds) *Herbologia e Biodiversidade numa Agricultura Sustentável*, Vol 2. IsaPress. 452 pp.
- CRUZ-HIPOLITO H E, DIAZ M A, RUIZ-SANTAELLA JP, DE PRADO RA, MENENDEZ J, VIDAL R (2007). Glyphosate resistance In several populations of *Lolium* spp. from Spain. *Proceedings 2007 WSSA Annual Meeting*. Santo António, Texas.
- FAVIER T & GAUVRIT C (2007). Premier case de resistance au glyphosate en France, *AFPP Vingtiéme Conferénce du COLUMA*, Dijon 11 et 12 de Dec, CD.
- FISCHER A (2011). Mecanismos y mitigación de la resistencia a herbicidas. *Actas XIII Cong SEMh*: 101-111, 22-24 Nov, San Cristobal de la Laguna, Espanha.
- GONZÁLEZ-TORRALVA F, GIL-HUMANES J, ROJANO-DELGADO AM, CRUZ-HIPOLITO HE, BARRO F & DE PRADO R (2009). New target site mutation in a glyphosate resistant Sumatran Fleabane (*Conyza sumatrensis*). Weed Sci. Soc. America Abstracts: 137.
- HEAP I (2013). The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Disponível online at http://www.weedscience.org, acesso Janeiro 2013.
- HRAC (1998). Classification of Herbicides According to Mode of Action. Guideline updated Sep-

- tember 1998. Herbicide Resistance Action Committee.
- KNEZEVIC SZ, STREIBIG JC, RITZ C (2007). Utilizing R software package for dose-response studies: the concept and data analysis. *Weed Technology* 21: 840-848.
- MARTINEZ A, URBANO JM, (2007). Nivel de resistancia a glifosato en poblaciones de *Conyza canadensis* de Andalucia. *Actas del XI Cong. SEMh* 3498-353.
- Mendes S, Portugal J, Calha IM (2011) Prospecção de resistência ao glifosato em populações de Conyza canadensis. Livro de resumos do 9º Enc Nac. Protecção Integrada (9ENPI): 93.
- MONTEIRO A & MOREIRA I (2004). Reduced rates of pre-emergence and post-emergence herbicides for weed control in vineyards. Weed Research 44:117-128.
- PEDROSA AS, MARTINS MR, PEDROSA FT (2004). Processos de erosão acelerada. Região Demarcada do Douro: um património em risco. *Estudos & Documentos. Douro* 17: 207-232
- PORTUGAL J, IM CALHA, R DEPRADO (2011). Infestantes resistentes ao glifosato na Peninsula Iberica *Abstracts XX Congreso ALAM*, 4-9 Dezembro Viña del Mar, Chile.
- PORTUGAL J, CALHA IM, GONZALEZ-TORRALVA F, ROLDAN R, DEPRADO R (2012). Management strategies for *Lolium* sp. resistant to glyphosate with herbicide programs. *International Workshop on "European status and solutions for glyphosate resistance"* Cordoba, Maio 2012, Spain.
- PRATLEY J, BAINES P, EBERBACH P, INCERTI M, BROSTER J (1996). Glyphosate resistance in annual ryegrass. In: *Proceedings 11th Annual Conference of the Grassland Society of NSW* J Virgona & D Michalk (eds), 122, The Grassland Society of NSW, Wagga Wagga, Australia.
- SEEFELDT SS, JENSEN JE, FUERST EP (1995). Log-logistic analysis of dose-response relationships. Weed Technology 9: 218-227.
- URBANO JM, BORREGO A, TORRES V, GIMENEZ C, LEON C, BARNES J (2005).
 Glyphosate-resistant hairyfleabane (Conyza bonariensis) in Spain. Weed Sci. Soc. America Abstracts: 118.

TOMOGRAFIA COMPUTORIZADA PARA A LOCALIZAÇÃO PRECISA E NÃO DESTRUTIVA DE ESTÁDIOS INICIAIS DE "ESCA" DA VIDEIRA

<u>Ricardo CHAGAS</u>^{1,2}; Ana VAZ²; Helena OLIVEIRA²; António FERREIRA³; Sara MONTEIRO²; Ricardo Boavida FERREIRA^{2,4}

RESUMO1

A "esca" é um complexo de doenças do lenho que afeta videiras por todo o mundo. Neste complexo estão envolvidos diversos fungos que podem agir sozinhos, em conjunto ou em sucessão. Nos estádios iniciais de infeção a videira pode não apresentar qualquer sintoma externo mas, com o progredir da doença, podem aparecer sintomas foliares ou mesmo apoplexia. A deteção da "esca" sem destruir a planta tem sido, por isso, impossível em estádios iniciais de infeção. Neste trabalho é apresentada uma metodologia não destrutiva para localizar os primeiros sintomas, no interior do tronco, após infeção com fungos da esca. De todas as tecnologias testadas, a tomografia computorizada (CT) foi a única que apresentou resolução suficiente para detetar a presença de *dark streaks/spots* no interior do tronco da planta, um sintoma precoce de plantas infetadas. Devido aos compostos presentes nas *dark streaks/spots* apresentarem uma densidade à penetração dos raios X superior à dos tecidos sãos, é possível identificar a sua presença utilizando CT e micro-CT, de forma não invasiva e não destrutiva. Ao permitir identificar estádios iniciais de infeção, o próximo passo será desenvolver novas metodologias para tratar as plantas *in situ*, contribuindo para controlar a doença durante esta fase, justificando o uso desta tecnologia em condições de campo. A possibilidade adicional de permitir uma fácil deteção de "*amadou*" identifica as plantas a arrancar e a destruir.

Palavras-chave: esca, doença de Petri, videira, CT, raios X, doença do lenho, Vitis

1 - INTRODUCÃO

A "esca" é um complexo de doenças do lenho da videira que tem vindo a alcançar uma importância crescente por todo o mundo. A maioria das espécies de *Vitis* e das castas de *V. vinifera* são suscetíveis, incluindo videiras americanas que podem apresentar sin-

¹ Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, 2829-516 Caparica

² Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, 1349-017 Lisboa

³ Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, 1300-477 Lisboa

⁴ Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Universidade Nova de Lisboa, 2780-157 Oeiras

tomas internos e externos de "esca" mesmo quando não enxertadas. No passado, acreditava-se que a "esca" afetava somente videiras adultas, mas a sua ocorrência em plantas jovens é cada vez mais frequente e amplamente documentada (SURICO *et al.*, 2006; 2008; ROMANAZZI *et al.*, 2009).

Atualmente estão descritas cinco síndromes para o complexo da esca (SURICO et al., 2006; 2008; BERTSCH et al., 2012): 1) dark-wood streaking que afeta principalmente plantas de viveiro; 2) doença de Petri, afectando videiras muito jovens (a partir de 1 ano de idade); 3) young esca, em que, a par de dark-wood streaking, surgem hard necroses e sintomas foliares caraterísticos de tiger-strip; 4) esca, white rot ou amadou, sem co-ocorrência de dark-wood streaking; 5) esca proper, geralmente encontrada em videiras adultas, com co-ocorrência de dark-wood streaking, amadou e sintomas foliares de tiger-strip.

Phaeomoniella chlamydospora e Phaeoacremonium aleophilum (CROUS et al., 1996CROUS & GAMS, 2000;; MUGNAI et al., 1999) são os fungos mais frequentemente associados às síndromes 1), 2), 3) e 5), enquanto Fomitiporia mediterranea e/ou outros basidiomicetas (CORTESI et al., 2000; FISCHER, 2002; FISCHER, 2006) estão envolvidos nas síndromes 4) e 5). Por sua vez, os sintomas foliares característicos (tigerstrip) surgem em videiras afetadas por young esca e/ou esca, tal como pode ocorrer o sintoma de apoplexia.

Os sintomas foliares podem surgir vários anos após a manifestação dos sintomas de dark-streaking/spots no lenho da videira (BERTSCH et al., 2012), ou seja, plantas gravemente infetadas podem permanecer externamente assintomáticas durante anos (MUGNAI et al., 1999; SURICO et al., 2006), o que as torna indistinguíveis de plantas sãs (MARCHI et al., 2006). Este fenómeno, amplamente registado, não apresenta ainda uma explicação consistente. Um corte transversal de uma videira doente permite identificar pequenas pontuações negras designadas por dark spots (MUGNAI et al., 1999), ou dark streaks se observadas em corte longitudinal. Desses dark spots são frequentemente expelidas gomas escuras (black goo) de vasos xilémicos individuais (BRUNO & SPARAPANO, 2006). O rastreio de doenças do lenho em troncos de videira é, por norma, um processo difícil e destrutivo, o que torna impossível acompanhar a evolução das diferentes síndromas/sintomas da "esca" na mesma planta. Por todas estas razões, é

de elevada importância o desenvolvimento de metodologias capazes de detetar, de forma não destrutiva, plantas nos estádios iniciais de infecção (*dark-wood streaking*, doença de Petri) e em antecipação ao estádio de *young esca*.

No presente trabalho, é apresentada uma metodologia não destrutiva que permite localizar com precisão a presença de tecidos saudáveis e infetados, nos vários estádios de infeção assim como identificar videiras infetadas que não apresentam sintomas foliares.

2 - RESULTADOS

Foram testados diferentes métodos de forma a identificar uma técnica não destrutiva capaz de detetar não só as primeiras fases de infeção causada pelos fungos envolvidos no complexo da esca como também a evolução dos sintomas internos das diferentes síndromes anteriormente referidas (Figura 1). A identificação de *dark-wood streaking* e/ou *black goo*, um líquido viscoso de cor castanha que preenche e bloqueia secções dos vasos xilémicos, foi usada como marcador dos estádios iniciais de infeção das videiras.

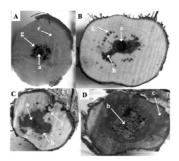


Figura 1 - Cortes transversais de troncos de videira em diferentes estádios de infeção com esca. (A) Sintomas iniciais (dark spots), (B) e (C) estádios intermédios, e (D) presença de white rot ou amadou. (a) Medula e orifícios; (b) amadou; (c) madeira morta, (e) madeira saudável; (f) nós da madeira; (g) black spots; (h) hard necroses.

2.1 - Tomografia axial computadorizada (CT)

Quando troncos de videira em diferentes estádios de infeção são analisados por CT e as secções correspondentes subsequentemente cortadas e fotografadas, são obtidos os resultados apresentados na Figura 2. Após análise das imagens transversais obtidas (por CT)

e das reconstruções tomográficas resultantes é possível identificar diferenças notáveis entre áreas saudáveis e doentes, como resultado das mudanças de densidade induzidas pela infeção fúngica. O contraste na imagem é definido como a diferença entre a intensidade do sinal detetado nos diferentes tipos de tecido.

Foram selecionadas diferentes imagens de raios X de vários *scans* e comparadas com secções de fotografias originais ilustrando sintomas iniciais (A1, B1 e C1), intermédios (A2, B2 e C2) e estádios finais da doença (A3, B3 e C3) (Figura 2). As alterações denominadas por *dark spots* (associadas à acumulação de *black goo*) e a madeira castanha infetada (*hard necroses*) mostram intensidades de *pixels* mais elevadas devido ao aumento da radiodensidade (unidades Hounsfield, H), em comparação com áreas não afetadas de madeira, como se pode ver na Figura 2, B1 a B3 e C1 a C3. O aparecimento de *black spots* em seções transversais da madeira parece ser o primeiro sintoma de infeção com esca em videira. Nesta fase, os *black spots* tendem a surgir de forma dispersa e concêntrica ao redor da medula. O seu número aumenta gradualmente à medida que a doença evolui para o estádio intermédio de infeção e tendem a formar um colar que rodeia um espaço interno de madeira afetada, cuja radiodensidade é também mais elevada em comparação com a madeira não afetada em redor.

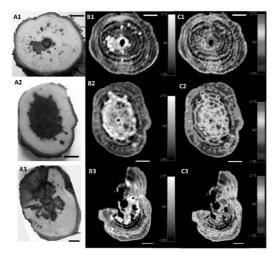


Figura 2 - Secção transversal de videiras e imagens de raios X (CT) que mostram a evolução típica de uma infeção causada por fungos do complexo da esca: estádio inicial (1), intermédio (2) e avançado (3) de infeção. (A1 a A3) Secções dos troncos previamente analisados por CT em B e C. (B1 a B3) Análise tomográfica a preto e branco e (C1 a C3) análise tomográfica usando escala de cor UCLA de acordo com a escada de radiodensidade apresentada à direita. Barra de escala = 1cm.

As áreas escuras são indicativas de regiões de radiodensidade baixa enquanto áreas mais claras indicam níveis crescentes de material mais radiodenso (Figura 2B). Comparando as fotografías originais com as imagens tomográficas correspondentes na escala de cinzentos, pode ver-se que os dark spots (identificados como contendo black goo) apresentam uma cor mais clara quando comparados com a madeira não afetada. A análise de 180 scans a troncos de videira em diferentes estádios de infeção (nos quais as alterações de radiodensidade foram confirmadas por subsequente seccionamento, inspeção visual e isolamento de fungos) revelou gamas de valores de radiodensidade característicos para estruturas anatómicas da planta ou alterações que indicavam infeção por fungos. Tecidos sãos no interior do tronco mostram valores de radiodensidade entre -80 H para vasos vazios, e aproximadamente 100 H para vasos contendo água e solutos que são transportados no xilema. Madeira afetada, tecido morto, orifícios e amadou mostram uma grande diminuição na radiodensidade, variando entre -900 H e -300 H. Gráficos XY produzidos pelo software Osirix v.1.3.7 (Figura 3) mostram três exemplos de variação das unidades de radiodensidade ao longo de uma secção transversal de um tronco da videira saudável (A), de um tronco em estádio intermédio (B) e de um tronco em estádio final (C) de doença.

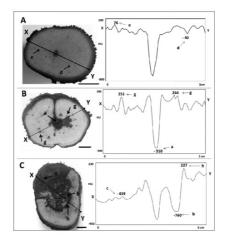


Figura 3 - Secções de troncos de videira e gráficos XY correspondentes (obtidos por análise por CT), onde se podem ver os diferentes padrões de radiodensidade através da linha marcada no gráfico. (A) secção do tronco de videira sã; (B) estádio intermédio de infeção; (C) estádio avançado de infeção. Barra de escala = 1cm. Gráficos XY extraídos com software OsiriX Viewer v.3.7.1.

Em fases intermédias de infeção há um aumento na densidade em áreas específicas, devido à presença de *black goo* no interior dos vasos xilémicos. A Figura 3B mostra o gráfico XY correspondente à secção transversal do tronco em análise (no lado esquerdo), onde se destacam os *dark spots* (g), no lado direito, com valores de H compreendidos entre 251 e 264. Nas fases finais da doença (*esca proper*) destaca-se o aparecimento de madeira morta e *amadou*. A Figura 3C ilustra algumas destas características, como madeira morta (c) com -39 H e *amadou* (b) com -760 H, apresentando uma grande diminuição da densidade nestes tecidos. O material esponjoso que se forma devido à podridão (*amadou*) tem um baixo teor em água e um elevado teor em ar, que se traduz em imagens de raios X com um número CT baixo. O gráfico XY da Figura 3C mostra também uma área mais radiodensa correspondente a madeira afetada (h), que apresenta um valor de +227 H.

2.2 - Tomografia computorizada de resolução elevada (TCAR) - Micro-CT

Como a técnica de CT mostrou resultados promissores na deteção de *dark spots* no interior de troncos de *V. vinifera*, foi realizado um novo ensaio usando uma técnica com uma resolução mais elevada, a micro-CT. A Figura 4 mostra a deteção (usando micro-CT) de material de alta densidade (cor branca) dentro de vasos xilémicos num tronco de videira durante a fase inicial e externamente assintomática de uma infeção causada por *Pa. chlamydospora*. É de salientar o elevado nível de contraste e resolução deste tipo de análise. Na secção transversal (Figura 4A), a presença de vasos xilémicos, total ou parcialmente cheios com *black goo*, foi confirmada por inspeção visual após corte do tronco.

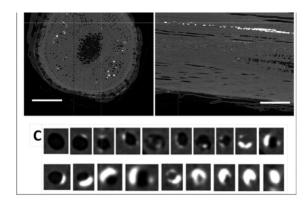


Figura 4 - Tomografia computorizada de elevada resolução (micro-CT) de um tronco de vide inicial de infeção causada por *Phaeomoniella chlamydospora*. (A) Corte transversal onde alguns vasos contendo *black goo (dark spots)*; (B) secção longitudinal correspondente acumulação de material de alta densidade ao longo dos vasos xilémicos (*dark-wood streakii* xilémicos individuais ilustrando o processo de acumulação de *black goo* em uma determinitronco. Barra de escala = 1 cm.

3 - DISCUSSÃO

Várias técnicas não destrutivas têm sido cada vez mais utilizadas como metodologias de avaliação, com o objetivo de observar e caracterizar o interior de árvores, madeiras, frutos, vegetais e/ou outros organismos vivos. Técnicas não destrutivas são amplamente utilizadas, especialmente na indústria da madeira, silvicultura e arboricultura urbana, para a caracterização e monitorização do seu estado fitossanitário, deteção de defeitos e/ou de podridão (BAIETTO et al., 2010; BIEKER & RUST, 2010; BUCUR, 2003b; BUCUR, 2005; NICOLOTTI et al., 2003). A maioria destas técnicas tem sido utilizada com sucesso em árvores, sob uma grande variedade de contextos, mas essencialmente com um objetivo comum: identificar a localização, extensão e presença de podridão e madeira morta. Este dado permite avaliar o risco de queda de uma árvore em áreas urbanas, o estado sanitário de espécimes valiosos, o valor comercial de árvores e madeiras, entre outros. Tanto quanto sabemos, o uso destas tecnologias com o objetivo de identificar sintomas iniciais de uma doença, para posterior tratamento, não foi utilizado anteriormente. No entanto, a deteção de infeção por fungos do complexo da esca (em particular durante estádios iniciais de infeção) requer o uso de um equipamento portátil de

alta resolução capaz de identificar e localizar a presença de *dark-wood streaking* e/ou *black-goo* no interior do tronco, idealmente em fase anterior ao desenvolvimento de sintomas de *young esca* (que já inclui sintomas foliares), para posterior tratamento localizado.

Em resumo, a análise de imagens por CT permite a identificação não destrutiva e não-invasiva de material vegetal colonizado por agentes patogénicos, em particular fungos pertencentes ao complexo da esca, em qualquer estádio da doença e principalmente na sua fase mais inicial, quando o hospedeiro responde produzindo um fluido viscoso (*black goo*) dentro de secções do xilema, revelado nas imagens de tomografía por regiões de elevada radiodensidade. Por outras palavras, a acumulação de material radiodenso dentro dos tecidos vasculares da planta (isto é, material com maior radiodensidade quando comparado com o fluido geralmente encontrado no xilema) conduz a uma indicação positiva de infeção causada por *Pa. chlamydospora* e/ou *Phaeoacremonium* spp. A técnica de CT permite a identificação adicional de *white-rot* ou *amadou* no interior do tronco, causado por *F. mediterranea* e/ou outros basidiomicetas, revelado por regiões de radiodensidade muito baixa, o que está de acordo com resultados referidos por outros autores (OKOSHI *et al.*, 2007).

A utilização da micro-CT permite uma análise mais precisa da distribuição de *dark-wood streaking/black goo* no interior do tronco da videira devido à maior resolução do equipamento face ao equipamento de CT utilizado nos nossos primeiros ensaios. Tanto quanto sabemos, não existe qualquer outra tecnologia que permita a deteção não invasiva e não destrutiva de tais sintomas nas plantas infetadas com fungos do complexo da esca. No presente, o único meio para identificar esse tipo de sintomas envolve a inspeção visual de um corte longitudinal no tronco de uma planta que pode provocar ferimentos graves ou mesmo a morte da planta.

A deteção precoce, não invasiva e não destrutiva dos sintomas de "esca" representa um passo importante para controlar este complexo de doenças na vinha. Nos primeiros estádios de infeção, doença de Petri e *young esca*, será possível recuperar videiras infetadas mas não existe ainda um tratamento disponível. O desenvolvimento de um tratamento eficaz para ser aplicado num local específico de uma planta ou diretamente na área afetada do tronco seria de grande interesse e justificaria a utilização da tecnologia descrita

no presente trabalho. Também em viveiros comerciais, a técnica possibilitaria a seleção de materiais isentos de *dark-wood streaking*.

O pedido de patente provisório foi submetido em Portugal (no. 105345 F) e no Reino Unido (no. 1.018.097,4), assim como o correspondente pedido PCT (no. PCT/EP2011/068320). A investigação futura incidirá não só sobre a portabilidade das técnicas descritas, mas também na busca de um tratamento eficaz para ser usado nas fases iniciais de infeção com esca.

AGRADECIMENTOS

Trabalho financiado pelo QREN - Projeto TOM.ESCA (Agência de Inovação/QREN/5580)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAIETTO M.; WILSON A.D.; BASSI D.; FERRINI F. (2010). Evaluation of three electronic noses for detecting incipient wood decay. *Sensors* 10, 1062-92.
- BIEKER D.; RUST S. (2010). Non-destructive estimation of sapwood and heartwood width in Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.). Silva Fennica 44, 267-73.
- BRUNO G.; SPARAPANO L. (2006). Effects of three esca-associated fungi on *Vitis vinifera* L.:

 II. Characterization of biomolecules in xylem sap and leaves of healthy and diseased vines. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 69, 195-208.
- BUCUR V. (2003a). *Nondestructive Characterization and Imaging of Wood*. Berlin: Springer-Verlag, 354 pp.
- BUCUR V. (2003b). Techniques for high resolution imaging of wood structure: a review. *Measurement Science & Technology* 14, R91-R8.
- BUCUR V. (2005). Ultrasonic techniques for nondestructive testing of standing trees. *Ultrasonics* 43, 237-9.
- CORTESI P.; FISCHER M.; MILGROOM M.G. (2000). Identification and spread of *Fomitiporia punctata* associated with wood decay of grapevine showing symptoms of esca. *Phytopathology* 90, 967-72.
- CROUS P.W.; GAMS W. (2000). *Phaeomoniella chlamydospora* gen. et comb. nov., a causal organism of Petri grapevine decline and esca. *Phytopathologia Mediterranea* 39, 112-8.
- CROUS P.W.; GAMS W.; WINGFIELD M.J.; VANWYK P.S. (1996). Phaeoacremonium gen nov associated with wilt and decline diseases of woody hosts and human infections. Mycologia 88, 786-96.
- FISCHER M. (2002). A new wood-decaying basidiomycete species associated with esca of grapevine: *Fomitiporia mediterranea* (Hymenochaetales). Mycological Progress 1, 315-24.
- FISCHER M (2006). Biodiversity and geographic distribution of basidiomycetes causing escaassociates white rot in grapevine: A worldwide perspective. Phytopathologia Mediterra-

- nea 45, S30-S42.
- MARCHI G.; PEDUTO F.; MUGNAI L.; DI MARCO S.; CALZARANO F.; SURICO G. (2006). Some observations on the relationship of manifest and hidden esca to rainfall. *Phytopathologia Mediterranea* 45, S117-S26.4
- MORTON L. (1995). Mystery diseases hit young vines. Wines and vines 76, 46-7.
- MUGNAI L.; GRANITI A.; SURICO G. (1999). Esca (Black measles) and brown wood-streaking: Two old and elusive diseases of grapevines. *Plant Disease* 83, 404-18.
- NICOLOTTI G; SOCCO LV; MARTINIS R; GODIO A; SAMBUELLI L (2003). Application and comparison of three tomographic techniques for detection of decay in trees. *Journal of Arboriculture* 29, 66-78.
- OKOSHI T.; HOSHINO Y.; FUJII H.; MITSUTANI T. (2007). Nondestructive tree-ring measurements for Japanese oak and Japanese beech using micro-focus X-ray computed tomography. *Dendrochronologia* 24, 155-64.
- ROMANAZZI G.; MUROLO S.; PIZZICHINI L.; NARDI S. (2009). Esca in young and mature vineyards, and molecular diagnosis of the associated fungi. *European Journal of Plant Pathology* 125, 277-90.
- SURICO G.; MUGNAI L.; MARCHI G. (2006). Older and more recent observations on esca: a critical overview. *Phytopathologia Mediterranea* 45, S68-S86.
- SURICO G.; MUGNAI L.; MARCHI G. (2008). The esca disease complex. In: *Integrated Management of Diseases Caused by Fungi, Phytoplasma and Bacteria* (A Ciancio, KG Mukerji, eds.), Dordrecht, Netherlands: Springer Science+Business Media B.V, 119-36.

Ephestia unicolorella woodiella E Cadra figulilella: DUAS NOVAS "TRAÇAS-DA-UVA" PRESENTES NAS VINHAS DO DOURO

Cristina CARLOS^{1,2}; Fátima GONÇALVES²; Susana SOUSA¹; M. Carmo VAL¹; Branca TEIXEIRA¹; Cátia MELANDA¹; Luís SILVA¹; Isabel GARCIA-CABRAL³; Laura TORRES²

RESUMO

No presente trabalho, reporta-se a ocorrência, nas vinhas da região do Douro, de duas espécies de lepidópteros da família Pyralidae, i.e. *Ephestia unicolorella woodiella* (Richards & Thomson) e *Cadra figulilella* (Gregson) a causarem, estragos muito semelhantes aos resultantes da 3ª geração da traça-da-uva, *Lobesia botrana* (Den. & Schiff.). Pela semelhança da sintomatologia do ataque, estas espécies podem, à primeira vista, ser confundidas com *L. botrana*, aquando das estimativas do risco. Por este facto, os resultados da aplicação de meios de protecção contra esta praga, e em particular do método da confusão sexual, poderão ser comprometidos. Pouco se sabe acerca da bioecologia das duas espécies aqui referidas, apenas que estão normalmente associadas a material vegetal seco ou desidratado. Na região do Douro observaram-se pela primeira vez na vindima de 2009 e desde então, tem-se assistido à expansão da sua distribuição. Futuros trabalhos deverão passar pelo estudo da sua bioecologia, para o que é importante dispôr de feromonas para a monitorização dos adultos, em particular no caso de *E. unicolorella woodiella*.

Palavras-chave: Ephestia unicolorella woodiella, Cadra figulilella, Pyralidae, vinha, traça-dauva.

[.]

¹ ADVID – Associação para o Desenvolvimento da Viticultura Duriense, Quinta de Santa Maria, Apt. 137, 5050-106 Godim, Portugal; cristina.carlos@advid.pt

² CITAB – Centro de Investigação e de Tecnologias Agro-Ambientais e Biológicas, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 5001-801, Vila Real, Portugal; mariafg@utad.pt, ltorres@utad.pt

³ Departamento de Biologia e Ambiente, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 5001-801, Vila Real, Portugal

1 - INTRODUÇÃO

Nos países da Bacia do Mediterrâneo, a traça-da-uva, *Lobesia botrana* (Den. & Schiff.) (Lepidoptera: Tortricidae), é considerada praga-chave da vinha, devido à importância dos prejuízos que causa ao alimentar-se dos cachos e ao promover o ataque de fungos, como a podridão-cinzenta, *Botrytis cinerea*. Contudo, na Europa, existem outras espécies de lepidópteros que se alimentam de cachos de uvas, das quais se destacam *Eupoecilia ambiguella* (Hübner) e *Argyrotaenia ljungiana* (Thunberg), da família Tortricidae e *Cryptoblabes gnidiella* (Milliére) e *Ephestia unicolorella woodiella* Richards & Thomson (= *Ephestia parasitella unicorella* Staudinger) da família Pyralidae (IORIATTI *et al.*, 2012). A última destas espécies é considerada praga ocasional da vinha em França e Itália (XUEREB *et al.*, 2003). No presente trabalho, refere-se a ocorrência, em vinhas do Douro, de, *E. unicolorella woodiella* e de outra espécie de Pyralidae, *Cadra figulilella* (Gregson) (= *Ephestia figulilella*) referida como praga da uva-passa na Austrália (BUCHANAN *et al.*, 1984). Por não ter sido possível obter informação, acerca destas duas espécies, em vinhas portuguesas, apresenta-se também uma breve revisão acerca da sua morfologia, ciclo de vida e hospedeiros.

2 - MORFOLOGIA

Os adultos de *L. botrana*, *E. unicolorella woodiella* e *C. figulilella* distinguem-se facilmente, quer pelo tamanho, quer pela coloração. Assim, no caso de *E. unicolorella woodiella* têm entre 14 e 20 mm de envergadura, as asas anteriores são acinzentadas e as posteriores de cor cinzenta a cinzenta-acastanhada, tingidas de vermelho-púrpura, com uma banda transversal pálida (muitas vezes indistinta) e bandas verticais mais escuras (ALFORD, 2007) (Figura 1). Já os adultos de *C. figulilella*, têm entre 12 e 20 mm de envergadura, as asas anteriores são esbranquiçadas e as posteriores acinzentadas, com escamas rosadas (HERBISON-EVANS & CROSSLEY, 2008) (Figura 2). Por outro lado, os adultos de *L. botrana* têm apenas 11 a 13 mm de envergadura, as asas anteriores são acinzentadas e franjadas e as posteriores apresentam uma tonalidade bronzeada com manchas de tom cinzento-azulado e pretas (IORIATTI *et al.*, 2012) (Figura 3).

Relativamente aos ovos, os de *E. unicolorella woodiella* têm forma oval e cor branca (XUEREB *et al.*, 2003) enquanto os de *C. figulilella* são redondos, amarelo-alaranjados

e ligeiramente pegajosos (BURKS & JOHNSON, 2012); por outro lado, os de *L. botrana* têm forma ligeiramente elíptica e cor inicialmente amarelada, tornando-se depois cinzentos transparentes com reflexos brilhantes (IORIATTI *et al.*, 2012).

As lagartas de *E. unicolorella woodiella* têm a cabeça castanha-avermelhada e o resto do corpo amarelo claro com manchas rosadas, onde se destacam numerosas sedas e tubérculos pilosos alongados, de cor escura (IORIATTI *et al.*, 2012) (Figura 4). Por sua vez, as larvas de *C. figulilella* são brancas e possuem dorsalmente quatro linhas longitudinais de pontos de cor púrpura (HERBISON-EVANS & CROSSLEY, 2008). Já as larvas de *L. botrana* possuem coloração que varia de verde-claro a acastanhado, dependendo da alimentação; a cabeça é amarela-acastanhada e o escudo protorácico tem a mesma cor, apresentando uma borda mais escura; possuem ainda pêlos em tubérculos de cor branca (IORIATTI *et al.*, 2012) (Figura 5). As lagartas de qualquer das espécies medem no máximo desenvolvimento cerca de 10 mm de comprimento.

As pupas de *L. botrana* (Figura 6) medem cerca de 4-6 mm e têm coloração acastanhada, enquanto as de *E. unicolorella woodiella* têm 7 a 8 mm de comprimento e coloração castanha alaranjada (IORIATTI *et al.*, 2012; ALFORD, 2007).

3 - BIOECOLOGIA

Pouco se sabe sobre os hospedeiros de *E. unicolorella woodiella* e *C. figulilella*, excepto que *E. unicolorella woodiella* está normalmente associada a material vegetal seco, bagas secas, rebentos secos de heras (ANÓNIMO s.d.) e, no caso da vinha, a bagos secos ou desidratados de uva (IORIATTI *et al.*, 2012). Já *C. figulilella* é referida como estando associada a frutos desidratados (KHAJEPOUR *et al.*, 2012), designadamente figos, pêssegos ou nectarinas caídas e uvas (FLAHERTY, 1992; HERBISON-EVANS & CROSSLEY, 2008).

Ambas as espécies hibernam no estado de lagarta num casulo que tecem para o efeito em locais abrigados, como ranhuras da casca da videira (SIMMONS & NELSON, 1975, IORIATTI *et al.*, 2012). *E. unicolorella woodiella* pode ainda hibernar no interior de bagos secos deixados na vinha enquanto *C. figulilella* pode hibernar nos primeiros centímetros de solo, junto ao tronco da videira (FLAHERTY, 1992; SIMMONS & NELSON, 1975); em ambas as espécies, a pupação ocorre durante a Primavera (SIM-

MONS & NELSON, 1975; IORIATTI *et al.*, 2012). Os adultos de *E. unicolorella woodiella* emergem a partir de Abril e estão activos durante o período de Abril a Setembro (FLEMISH ENTOMOLOGICAL SOCIETY, 2004), dando origem, em regra, a uma geração anual (HOWARD, 2011). Os adultos de *C. figulilella* também começam a emergir a partir de Abril, podendo dar origem a quatro gerações anuais (SIMMONS & NELSON, 1975; FLAHERTY, 1992). Apesar disso, aparentemente o ataque na videira só ocorre a partir de Agosto, quando começam a existir frutos maduros.



Figura 1 - Adulto de *Ephestia* unicolorella woodiella



Figura 2 - Adulto de Cadra figulilella



Figura 3 - Adulto de *Lobesia botrana*



Figura 4 - Larva de Ephestia unicolorella woodiella



Figura 5 – Larva de *Lobesia* botrana



Figura 6 – Pupas de *Ephestia* unicolorella woodiella (à esquerda) e de *Lobesia* botrana (à direita)

4 - SINTOMATOLOGIA E ESTRAGOS EM VINHA

As lagartas de *E. unicolorella woodiella* são normalmente observadas após o estado fenológico "pintor" parecendo manifestar preferência por bagos secos ou murchos (IORIATTI *et al.*, 2012) enquanto *C. figulilella* terá preferência por uvas maduras e em particular pelas que estiverem danificadas, com podridões ou desidratadas (FLAHERTY, 1992; HERBI-SON-EVANS & CROSSLEY, 2008). Aparentemente, as lagartas jovens de *E. unicolorella woodiella* alimentam-se do ráquis e, quando mais desenvolvidas, conseguem penetrar os frutos e alimentar-se do seu interior (ALFORD, 2007; XUEREB *et al.*, 2003).

Em termos comportamentais estas lagartas distinguem-se com relativa facilidade das de *L. botrana* por serem menos activas. Assim, enquanto as lagartas desta espécie se mexem freneticamente quando importunadas, deixando-se cair por um fio de seda, as de *E. uni-colorella woodiella* permanecem quase imóveis e frequentemente dobradas em forma de C (IORIATTI *et al.*, 2012).

5 - DISTRIBUIÇÃO MUNDIAL

A presença de *E. unicolorella woodiella* foi reportada em Espanha, França, Croácia, Rússia, Bélgica, Luxemburgo e Países Baixos (FAUNA EUROPAEA, 2013), Ilhas Britânicas, Suíça e Itália (ALFORD, 2007). *C. figulilella* é uma espécie com maior expansão, sendo primariamente encontrada nos países da região do Mediterrâneo e em regiões da América e Austrália que apresentem climas semelhantes (BURKS & JOHNSON, 2012).

6 - NOTA SOBRE A OCORRÊNCIA DE *E. UNICOLORELLA WOODIELLA* E *C. FIGULILELLA* EM VINHAS DO DOURO

As espécies analisadas no presente trabalho observaram-se pela primeira vez em vinhas do Douro, com o registo da ocorrência de *E. unicolorella woodiella* em 2009 (Quadro 1). Em 2011 e 2012, o alargamento das observações a maior número de parcelas, Quintas e sub-regiões, permitiu obter informação adicional sobre a ocorrência desta espécie na região e permitiu também identificar em 2012, *C. figulilella* embora com uma ocorrência comparativamente menor (Quadro 1).

A análise dos dados obtidos mostra que na região do Cima Corgo, *E. unicolorella woodiella* se observou em 16,7% das parcelas amostradas em 2009, em 11,5% das amostradas em 2011 e em 25,9 % das amostradas em 2012. Comparando a importância relativa das três espécies de "traças-da-uva" identificadas, verifica-se que em 2011, das 151 lagartas colhidas, 89,4% eram de *L. botrana* e 10,6% eram de *E. unicolorella woodiella*. Já em 2012, das 124 lagartas obtidas, 61,2% eram de *L. botrana*, 33,9% eram de *E. unicolorella woodiella* e 4% eram de *C. figulilella* (Quadro 2).

Quadro 1 - Registos da ocorrência de diferentes espécies de "traças-da-uva" na região do Douro

Ano	Sub-região	b-região Nº Quintas em Nº parcela estudo amostrada		Nº parcelas com:			
		estudo	amostrauas =	LOB	EPH	CAD	
2009	CC	2	6	6	1	0	
2011	CC	4	26	17	3	0	
2012	BC	3	10	4	0	0	
	CC	5	54	25	11	3	
	DS	1	6	0	3	0	

Legenda: BC- Baixo Corgo; CC – Cima Corgo; DS – Douro Superior; LOB- $L.\ botrana$; EPH - $E.\ unicolorella\ woodiella$; CAD – $C.\ figulilella$

Quadro 2 – Número de lagartas de cada uma das espécies de "traças-da-uva" colhidas em 2011 e 2012, e percentagem em relação ao total

Espécie	2011		2012	
	N^{o}	%	N°	%
L.botrana	135	89,4	77	62,1
E. unicolorella woodiella	16	10,6	42	33,9
C. figulilella	0	0,0	5	4,0
Total	151	100	124	100,0

Estes resultados parecem indicar, que *E. unicolorella woodiella* está adaptada a climas mais quentes, pelo facto de ter sido observada apenas nas sub-regiões do Cima Corgo e Douro Superior, sendo que no Baixo Corgo não foi registada a sua presença (Quadro 1).

O reconhecimento da existência destas duas espécies de piralídeos nas vinhas do Douro, aponta para a necessidade da realização de estudos destinados a, conhecer a sua verdadeira importância na região. Por outro lado, será também interessante avaliar o impacto das condições climáticas na ocorrência das espécies em causa. Neste sentido, e no que respeita a *E. unicolorella woodiella* será de grande utilidade identificar a sua feromona sexual e proceder à sua síntese em laboratório, sendo que para *C. figulilella* o principal componente dessa feromona já está identificado e já existe a correspondente formulação comercial (EL-SAYED, 2012), embora não se comercialize em Portugal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFORD DV (2007). Pest of fruit crops. A color handbook. Academic Press, 461 p. http://books.google.pt/books?id=jhRxGuuCY1kC&printsec=frontcover&hl=ptPT&source=g bs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false. Acedido em 11/01/2013
- ANÓNIMO (s.d.). Rare or threatened species present. Marshells Heath Nature Reserve. http://www.wheathampstead.net/mh/rare.htm. Acedido em 11/01/2013.
- BUCHANAN GA, MCDONALD G & EVANS PWC (1984). Control of Drosophila spp., Carpophilus spp. and *Ephestia figuliella* (Gregson) in sultana grapes grown for dried fruit. Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry, 24 (126): 440-446.
- BURKS CS & JOHNSON JA (2012). Biology, Behavior, and Ecology of Stored Fruit and Nut Insects. http://entomology.k-state.edu/doc/finished-chapters/s156-ch-03-biol-fruit-nut-insmar22.pdf. Acedido em 08/02/2012
- EL-SAYED AM (2012). The Pherobase: Database of Pheromones and Semiochemicals. http://www.pherobase.com. Acedido em 20/02/2012.
- FAUNA EUROPAEA (2013). http://www.faunaeur.org/. Acedido em 11/01/2013
- FLAHERTY D L (Ed.) (1992). *Grape pest management*. Agriculture & Natural Resources. http://books.google.pt/books?id=D10nsOcNTaUC&printsec=frontcover&dq=Grape+pest+m anagement&hl=ptPT&sa=X&ei=10YkUciPB9K6hAfHxYDoDQ&ved=0CDYQ6AEwAA. Acedido em 20/02/2012.
- FLEMISH ENTOMOLOGICAL SOCIETY (2004) Catalogue of the Lepidoptera of Belgium. http://webh01.ua.ac.be/vve/Checklists/Lepidoptera/Pyralidae/Eparasitella.htm. Acedido em

11/01/2013.

- HERBISON-EVANS D & CROSSLEY S (2008) Cadra figulilella (Gregson, 1871). http://lepidoptera.butterflyhouse.com.au/pyra/figulil.html. Acedido em 08/02/2012
- HOWARD (2011) Moths and butterflies. http://www.lotmoths.com/species/species.php? frmSpeciesID=1174. Acedido em 22/01/2012.
- IORIATTI C, LUCCHI A & VARELA LG (2012) Grape berry moths in western european vineyards and their recent movement into the new world.. In Bostanian NJ, Vincent C & Isaacs R (Eds). Arthropod Management in Vineyards: Pests, Approaches and Future Directions. Springer: 339-381.
- KHAJEPOUR S, IZADI H & ASARI MJ (2012) Evaluation of two formulated chitin synthesis inhibitors, hexaflumuron and lufenuron against the raisin moth, *Ephestia figulilella*. Journal of Insect Science 12:102. http://www.insectscience.org/12.102. Acedido em 08/02/2012
- SIMMONS P & NELSON HD (1975) Insects on dried fruits. Agriculture Handbook 464. Agricultural Research Service. United States Department of Agriculture. http://www.ars.usda.gov/is/np/insectsdriedfruits/insectsdriedfruits.pdf. Acedido em 08/02/2012
- XUEREB A, MAUTRAIT E, LAGUERRE M & THIERY D (2003) Une pyrale polyphage pouvant causer des dégâts au vignoble. *Ephestia parasitella* (Lepidoptera, Pyralidae, Phyticinae) est present dans le Bordelais. Phytoma la defense des Végétaux, 555: 30-32

Trabalho realizado no âmbito do projecto "EcoVitis - Maximização dos Serviços do Ecossistema Vinha na Região Demarcada do Douro", co-financiado pelo Programa de Desenvolvimento Rural – Ministério da Agricultura, Mar, Ambiente e Ordenamento do Território – Fundo Europeu Agrícola de Desenvolvimento Rural – "A Europa investe nas zonas rurais". Os autores agradecem ao Dr. Andrea Lucchi, da Universidade de Pisa e Dr. Bruno Bagnoli, do Centro de Investigação em Agrobiologia e Pedologia, Florença, a identificação das espécies de piralídeos.

FLAVESCÊNCIA DOURADA EM PORTUGAL: SINTOMATOLOGIA, RISCOS DE DISPERSÃO E CONTROLO

Esmeraldina SOUSA⁽¹⁾; Katia TEIXEIRA⁽²⁾; Anabela ANDRADE⁽³⁾; José GUERNER⁽⁴⁾; Gisela CHICAU⁽⁴⁾; Céu MIMOSO ⁽¹⁾;

RESUMO

A doença da Flavescência dourada (FD) leva, na generalidade, a uma diminuição do vigor e baixo rendimento e morte das videiras. Tem-se registado um aumento da dispersão da doença e do seu vetor nas regiões noroeste e centro do país, causando graves prejuízos nas vinhas, podendo afirmar-se que este progresso se deveu, em grande parte, à grande difusão das populações de *Scaphoideus titanus*, por ausência de um plano de tratamento coletivo, o que fez aumentar grandemente os focos de infeção. Para além do vetor, são os materias de propagação vegetativa contaminados, nos quais os porta-enxertos não manifestam sintomas, que podem dispersar a doença a longas distâncias. Neste trabalho enumeram-se os sintomas chave para deteção da FD em campo, referem-se fatores de risco e medidas de contenção da doença.

Palavras chave: Flavescência dourada, deteção, epidemiologia, meios de controlo

1 - INTRODUÇÃO

Flavescence dorée phytoplasma, o fitoplasma responsável pela doença referenciada com o mesmo nome, Flavescência dourada (FD), é um organismo de quarentena e de luta obrigatória na Europa. A FD é a fitoplasmose que causa na Europa, de forma epidémica,

⁽¹⁾ Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária. Edificio 1. Tapada da Ajuda. 1300-018. Lisboa.

⁽²⁾ Direcção Geral de Alimentar e Veterinária. Edificio 1. Edificio 1. Tapada da Ajuda. 1300-018. Lisboa.

⁽³⁾ Direcção Regional de Agricultura do Centro. Estação de Avisos da Bairrada, Apartado 7. 3781-907 Anadia

⁽⁴⁾ Direcção Regional de Agricultura do Norte. Direcção Regional de Agricultura do Norte. Estrada Exterior da Circunvalação nº11846 4460-281 Senhora da Hora esmeraldina.sousa@iniav.pt

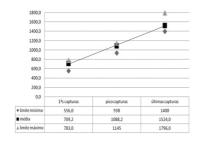
maiores danos na videira (*Vitis vinifera* L.). O agente causal é transmitido por um cicadelídeo, *Scaphoideus titanus* Ball (ST), e está associado com '*Candidatus* Phytoplasma vitis' (LAPAGE *et al.*, 1992; IRPCM, 2004). Flavescência dorée phytoplasma classifica-se no grupo 16SrV (Elm Yellows), existindo na Europa, maioritariamente, dois subgrupos: 16SrV-D (FD-D) e 16SrV-C (FD-C) (MARTINI *et al.*, 1999).

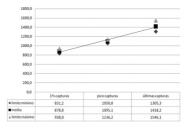
2 - EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA

O cicadelídeo ST, oriundo da América do norte, está agora largamente disseminado pela Europa, sendo o principal vetor na transmissão do fitoplasma videira a videira, enquanto, a longas distâncias, o agente patogénico se dispersa através da comercialização e utilização de material de propagação vegetativa contaminado, nos quais os porta-enxertos não manifestam sintomas, tendo um papel importante na dispersão da doenca.

O inseto vetor ST tem como principal hospedeiro a videira e tem uma geração anual. As fêmeas efetuam a postura sob o ritidoma da videira, em madeira com dois ou mais anos. Após a eclosão dos ovos, a partir de maio, as ninfas procuram a folhagem nova para se alimentarem. Passam por cinco instares antes de atingirem o estado adulto (Figura1). O vetor não transmite o fitoplasma à descendência (ovos).

O aparecimento dos adultos pode prolongar-se de finais de junho até meados de outubro, entre os 556 °C e os 1796 °C de temperaturas médias acumuladas, com um pico por volta dos 1000°C (Figura 1).





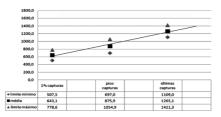
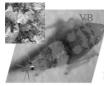


Figura 1-Relação entre os valores das temperaturas médias, máximas e mínimas acumuladas em três regiões (Vinhos verdes, Dão e Bairrada) e o aparecimento dos primeiros alados (estudos preliminares)



- 1- Fase de aquisição, na qual o inseto adquire o agente patogénico enquanto ise alimenta numa cepa infectada;
- 2- Fase de multiplicação, em que o fitoplasma se multiplica no interior do inseto até alcançar as glândulas salivares (período de latência com duração aproximada de um mês); a partir deste momento o inseto torna-se infecioso até á sua morte;
- **3** Fase de **inoculação**, durante a qual o inseto infeta outras cepas sãs (este período persiste durante toda a vida do cicadelídeo vetor).

Figura 2 – Scaphoideus titanus: ninfa de 5° instar.

O conhecimento desta relação do inseto com o fitoplasma é decisivo para a aplicação do primeiro tratamento químico (3 a 4 semanas após o aparecimento das ninfas de 1º instar).

Pelo facto do inseto realizar todo o seu ciclo de vida na videira, a progressão da doença na vinha faz-se predominantemente na linha, sendo, no entanto, influenciada pela direção dos ventos dominantes e pela natural apetência do vetor pela variedade.

3 - RISCOS DE DISPERSÃO

A doença da Flavescência dourada da vinha, quando não controlada, poderá colocar em causa a sustentabilidade de importantes regiões vitivinícolas do país, como as regiões com Designação de Origem Controlada (DOC), 'Vinhos verdes' e 'Vinhos do Porto'. Do ponto de vista fitossanitário, e a manter-se a situação atual relativamente à disseminação do fitoplasma em Portugal, a tendência é de expansão para sul e para o interior (Figura 3) e, simultaneamente, de aumento dos prejuízos provocados pela doença nas regiões onde ela já está instalada, com consequente perda de produtividade das vinhas ou necessidade do seu arranque.



Figura 3: Previsão de expansão da doença da Flavescência dourada pelo país – cenário de deriva fitossanitária (fonte:PAN-FD-2013)

4 - DETEÇÃO E IDENTIFICAÇÃO

Podem considerar-se dois tipos de deteção indispensáveis: visual e laboratorial. Refirase, no entanto, que devido ao facto dos fitoplasmas possuírem poucos mecanismos de indução de patogenicidade, sintomas idênticos na mesma espécie podem ser provocados por diferentes fitoplasmas, pelo que a deteção visual dos sintomas deverá ser sempre comprovada por testes laboratoriais.

Deteção por sintomas

Todas as variedades de Vitis vinifera são sensíveis e os sintomas manifestam-se de diversas maneiras. Os sintomas associados à doença da Flavescência dourada da videira são particularmente visíveis durante o verão (a partir de julho) nas folhas e cachos; os maus atempamentos típicos observam-se melhor no início da queda da folha. Podem afetar alguns lancamentos ou toda a planta.

Sintomas chave para identificação da doença da Flavescência dourada em campo:

Primavera

- △Abortamento de gomos foliares e florais
- ∆Inflorescências raquíticas
- △Folhas mais pequenas
- As folhas começam a enrolar para a página inferior
- △Queda antecipada de folhas (com ou sem pecíolo)
- △ Lançamentos secam a partir do ápice
- ∆Ramos flexuosos e gomosos

Verão/Outono

- Amarelecimento (avermelhamento) das nervuras
- Avermelhamento (amarelecimento) setorial do limbo (manchas delimitadas pelas nervuras)
- Enrolamento triangular das folhas para página inferior, podendo afetar ramos inteiros
- Coloração 'dourada' e brilhante; consistência espessa e estaladiça das folhas
- Murchidão total ou parcial dos cachos que podem partir e destacar-se do ramo
- As folhas podem ficar agarradas até mais tarde
- Mau atempadamente total das varas (infeção não recente)

A doença da Flavescência dourada leva, na generalidade, a uma diminuição do vigor e baixo rendimento e morte das plantas.

A maior ou menor gravidade dos sintomas depende de vários fatores como a pressão do vetor sobre a vinha e na vizinhança da mesma, outros agentes patogénicos presentes nas plantas, como os fungos do lenho, vírus e/ou a ocorrência de condições ambientais favoráveis (situações de stress favorecem o aparecimento de sintomas e a decrepitude das videiras afetadas), a casta (mecanismos de defesa; maior ou menor apetência do vetor).

Deteção laboratorial

Os métodos de análise mais utilizados são da área da biologia molecular devido à sua elevada sensibilidade. Alguns fatores importantes afetam o diagnóstico laboratorial como a variação sazonal, distribuição irregular e fraco título do fitoplasma nos tecidos das plantas; amostra não adequada, a qual deverá ser colhida na altura de maior concentração do fitoplasma na planta (verão/início do outono) e por pessoal conhecedor dos sintomas, devendo as amostras ser bem acondicionadas e chegar em condições ao laboratório.

O método atualmente mais usado para análise laboratorial é o nested-PCR (Polymerase chain reaction):

- 1ª Amplificação com os iniciadores universais da região ribossomal P1/P7
- 2ª Amplificação com os iniciadores universais R16F2/R2
- 3ª Amplificação com os iniciadores específicos R16(V)F1/R1

Segue-se a confirmação por RFLP (Restriction Fragment Length Polymorfism) ou sequenciação nucleotídica do produto PCR. Este é o método atualmente usado no INIAV

para deteção do fitoplasma e dois 'amplicons' representativos F2/R2, obtidos de videira cvs.'Loureiro' e 'Vinhão, foram clonados, sequenciados e depositados no GenBank (FJ611961 e FJ611962), revelando 99-100% de identidade com o grupo 16Sr-V. Os isolados exibiram os padrões electroforéticos típidos do subgrupo-D (SOUSA *et al.*, 2007).

5 - SITUAÇÃO ATUAL

Em Portugal, a presença de ST foi referida pela primeira vez na região de Entre-Douroe-Minho (QUARTAU *et al.*, 2001). Sendo um vetor de um organismo de quarentena, este cicadelídeo é todos os anos prospetado pelos serviços oficiais do MAMAOT em todo o país, continente e Ilhas. Em 2012 foram prospetados 479 locais, para além da Região vitivinícola do Minho.

Tem-se registado um aumento da dispersão do fitoplasma e do seu vetor nas regiões noroeste e central do país, causando graves prejuízos nas vinhas, podendo afirmar-se que este progresso se deveu, em grande parte, à grande difusão das populações de ST, por ausência de um plano de tratamento coletivo, o que fez aumentar grandemente os focos de infeção.

Scaphoideus titanus

Na Figura 4 apresenta-se a evolução do número de freguesias onde, até 2012, foi detetada a presenca do inseto vetor.

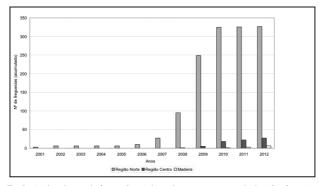


Figura 4 - Evolução do número de freguesias onde se detetou a presença de *Scaphoideus titanus* Ball - Dados das prospeções oficiais realizadas entre 2001-2012 (fonte:PAN-FD-2013)

Pode observar-se que, a partir de 2006, se tem verificado um aumento da dispersão do ST na zona Norte. Em 2008, foi detetado, pela primeira vez, numa vinha da região Centro, onde se constatou um aumento das populações de ST nos anos seguintes. Em 2012 registou-se um acréscimo de 5 freguesias nesta região. O ponto mais a sul onde se registou a presença do inseto foi na freguesia de S. João do Campo, no concelho de Coimbra.

Em 2010, ST foi detetado, pela primeira vez, na ilha da Madeira. Durante a prospeção de 2011, foi assinalada a presença do cicadelídeo nos três concelhos situados na zona norte da ilha e em 2012 assinaladas mais 3 freguesias dos mesmos concelhos. Até à data, não foram identificados casos positivos da doença nesta região.

Doença

A doença foi detetada em videira, pela primeira vez, em 2006 (SOUSA *et al.*, 2007), em material proveniente de duas vinhas da Região Vitivinícola do Minho.

Até 2011, a doença foi identificada em cepas de vinhas localizadas em vários concelhos das regiões Vitivinícolas do Minho, do Douro e das Beiras. Os dados de 2012 revelam uma expansão da doença para os concelhos de Arco de Valdevez e Cabeceiras de Basto. Identificou-se, também, a sua presença numa vinha em S. João da Pesqueira (Figura 5).



Figura 5: Concelhos onde foi detetada a doença da Flavescência dourada (fonte:PAN-FD-2013)

6 - MEDIDAS DE CONTENÇÃO

Devido ao potencial impacte da dispersão desta doença na viticultura portuguesa, e reconhecendo os elevados estragos provocados pela Flavescência dourada nas vinhas e os correspondentes prejuízos para o sector vitivinícola nacional, foram criadas, além das medidas já previstas na legislação geral fitossanitária, medidas adicionais de emergência fitossanitária destinadas à erradicação do fitoplasma e ao controlo da disseminação do insecto vector, publicadas na Portaria n.º 976/2008, de 1 de setembro.

Não obstante as medidas fitossanitárias já em execução nos últimos anos pelos serviços oficiais, face à dispersão da doença no nosso país, tornou-se necessário reforçar as ações em curso e definir medidas adicionais que envolvem fortemente os produtores vitícolas no combate a esta grave doença da vinha, com vista à efetiva contenção da sua dispersão. Neste contexto, está em implementação um Plano de Ação Nacional para o Controlo da Flavescência Dourada (PAN-FD) que foi aprovado pela tutela em 2013. Para a elaboração deste plano a Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) coordenou um grupo de trabalho que incluiu representantes das seguintes entidades: Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, IP-INIAV; Direção Regional de Agricultura e Pescas do Norte-DRAPN; Direção Regional de Agricultura e Pescas do Centro-DRAPC; Instituto da Vinha e do Vinho, I.P-IVV; Instituto dos Vinhos do Douro e Porto, I.P-IVDP; ADVID-Associação para o Desenvolvimento da Viticultura Duriense; Associação Nacional de Viveiristas Vitícolas Produtores de Material Certificado-VITICERT; Avitílima-Associação de Viticultores do Vale Lima; Comissão de Viticultura da Região dos Vinhos Verdes; Comissão Vitivinícola da Bairrada; Comissão Vitivinícola Regional de Trás-os-Montes; Comissão Vitivinícola Regional do Dão.

Conforme previsto no Plano, foi revista a Portaria 976/2008 (em publicação). Nesta nova portaria assumem especial relevância as medidas dirigidas ao controlo dos materiais vegetativos e as medidas de erradicação em Zonas de Intervenção Prioritária (ZIP). Salientam-se algumas outras ações pioneiras que já se encontram em fase de implementação:

- 1-Formação de técnicos de organizações privadas com interesses no setor vitivinícola, para participarem na prospeção da doença sob coordenação das DRAP's.
- 2-Alargamento do sistema de Informação da Vinha e do Vinho (SiVV) à fitossanidade.

3-Envolvimento das CIM (Comunidades intermunicipais) na implementação de algumas medidas previstas no Plano.

7 - CONCLUSÃO

A contenção urgente da dispersão da Doença da Flavescência dourada e seu vetor passa pela aplicação conjugada das diversas medidas de controlo definidas no PAN-FD com as quais se pretende conter a doença dentro das regiões vitícolas onde está declarada, diminuindo ao mínimo o seu impacte no setor vitivinícola dessas regiões. Pretende-se uma estratégia de ações que a médio prazo contribuam para reduzir a doença da Flavescência dourada para níveis fitossanitários e económicos aceitáveis, e assegurar a sanidade dos materiais de multiplicação de videira nacionais, de forma a garantir a confiança e a sustentabilidade do sector viveirista nacional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DVAV. (2013). Plano de Ação Nacional para o Controlo da Flavescência Dourada (PAN-FD). (www.dgav.pt).
- GUIMARÃES, J.M. & ANDRÉ, G. (2001). On the occurrence in Portugal of the natural vector of the grapevine 'Flavescence dorée' (FD). Reunião do Grupo de Trabalho de proteção Integrada da Vinha OILB/SROP. Escola Superior Agrária de Ponte de Lima. 3 a 7 de março de 2001.
- LAPAGE, S.P., SNEATH, P.H.A., LESSEL, E.F., SKERMAN, V.B.D., SEELIGER, H.P.R.; Clark, W.A. (eds) (1992). *International Code of Nomenclature of Bacteria (1990 Revision)*. *Bacteriological Code*. Washington, D.C. American Society for Microbiology.
- MARTINI, M.; MURARI, E.; MORI, N.; BERTACCINI, A. (1999). Identification and epidemic distribution of two Flavescence doreé-related phytoplasmas in Veneto (Italy). *Plant Disease*, 83: 925-930.
- SOUSA, E.; CARDOSO, F.; LOURENÇO, M.; GUIMARÃES, M.; CARLOS, C. (2003). Application of nested-PCR and RFLP analysis on grapevine Portuguese varieties and *Scaphoideus titanus* Ball for the detection of Flavescence dorée phytoplasma. *Proceedings of 14th meeting of ICVG*, Italy.
- SOUSA, E.; BALTAZAR, C.; BIANCO, P.; CASATI, P. CARDOSO, F. XAVIER, A., CARLOS, C. (2007). Deteção do fitoplasma Flavescence dorée em videira e no seu vetor (Scaphoideus titanus Ball) em Portugal. 7º Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo. Évora. 23-25 maio, pp 86-93.

DECLÍNIO DAS VIDEIRAS JOVENS: RESULTADOS DE UM ESTUDO REALIZADO NUMA VINHA DA REGIÃO DO ALENTEJO

Pedro REIS¹, Teresa NASCIMENTO¹, Ana CABRAL¹, Helena OLIVEIRA¹, Cecília REGO¹

RESUMO

As doenças do lenho da videira, e em particular o declínio das videiras jovens, constituem um problema grave e de consequências económicas importantes, pois comprometem seriamente o rendimento e a sobrevivência das vinhas. No âmbito do presente trabalho, desenvolveu-se um estudo fitossanitário numa vinha jovem com declínio precoce e morte de cepas, instalada na Vidigueira, Alentejo. A incidência média de *Ilyonectria* spp., Botryosphaeriaceae, *Phaeomoniella chlamydospora* e de *Phomopsis* sp. foi de 37%, 16%, 11% e 2%, respetivamente e a severidade média foi de 9%, 4%, 2% e 0,3%, respetivamente. Dentre os fungos isolados, selecionaram-se 33 isolados semelhantes a *Ilyonectria* spp. para estudo da variabilidade inter- e intra-específica, com base em características morfológicas, culturais e moleculares. Os resultados obtidos permitiram identificar as espécies *I. estremocensis*, *I. europaea*, *I. liriodendri*, *I. macrodidyma*, *I. torresensis* e *I. vitis*, para além da espécie "*Cylindrocarpon*" pauciseptatum.

Palavras-chave: Pé negro, doença de Petri., botriosferioses, escoriose, declínio, Vitis vinifera.

1 – INTRODUÇÃO

Uma vinha jovem instalada no concelho da Vidigueira, Alentejo, apresentava um elevado número de plantas com fraco desenvolvimento vegetativo, entrenós curtos e vegetação raquítica. As folhas das plantas doentes exibiam cloroses e um avermelhamento precoce bastante intenso. Um número significativo de videiras tinha morrido inesperadamente, logo após a plantação, ou no ano que se lhe seguiu. Estes sintomas indicavam a possibilidade de estarmos perante um declínio de videiras jovens, síndroma frequentemente associado a um conjunto de doenças abióticas e bióticas. Dentre as últimas são de salien-

¹ CEER, Centro de Engenharia de Biossistemas, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal, pedrocalhaz@gmail.com

tar o pé negro e a doença de Petri, frequentemente associadas a botriosferioses do lenho da videira e a escoriose (OLIVEIRA *et al.*, 2004; REGO *et al.*, 2006).

Em Portugal, o pé negro é maioritariamente causado por fungos do género *Ilyonectria*, sendo *I. liriodendri* e o complexo *I. macrodidyma* (*I. macrodidyma*, *I. estremocensis*, *I. alcacerensis*, *I. novozelandica*, *I. torresensis*), os que ocorrem com maior frequência (REGO, 2004; HALLEEN et al., 2006a; CABRAL et al., 2012a). Para além destes, as espécies *I. europaea*, *I. lusitanica*, *I. pseudodestructans*, *I. robusta* e *I. vitis*, pertencentes ao complexo *I. radicicola*, estão igualmente associadas ao pé negro em videira (CABRAL et al., 2012b), tal como "*Cylindrocarpon*" pauciseptatum (SCHROERS et al., 2008; CABRAL et al., 2012c). A doença de Petri é causada por *Phaemoniella chlamydospora* e *Phaeoacremonium* spp., espécies que têm distribuição mundial e, em países como a França e Itália, é-lhes quase exclusivamente atribuído o declínio das videiras jovens em detrimento de outros fungos do lenho (MUGNAI et al., 1999; LARIGNON & DUBOS, 2000). Em Portugal, estes fungos ocorrem com frequência nalgumas regiões (CHICAU et al., 2000; CRUZ et al., 2005; SOFIA et al., 2006), contudo, globalmente, surgem em baixas percentagens (REGO et al., 2006).

As botriosferioses do lenho da videira são causadas por fungos Botryosphaeriaceae, nomeadamente *Botryosphaeria parva*, espécie dominante e mais agressiva, *Botryosphaeria dothidea*, "*Botryosphaeria*" obtusa, "*Botryosphaeria*" stevensii, "*Botryosphaeria*" lutea e *Spencermartinsia viticola* (PHILLIPS, 2002; VAN NIEKERK et al., 2006; VAZ, 2008; REGO et al., 2009). Por último, a escoriose, causada maioritariamente por *Phomopsis viticola*, é frequentemente detectada a partir de materiais vitícolas, mas não existem estudos que permitam confirmar a importância real da doença no país.

O objectivo inicial deste trabalho foi efectuar o levantamento fitossanitário de uma vinha jovem com declínio, através da realização de análises microbiológicas a partir de videiras doentes, e avaliação da incidência e da severidade dos diferentes géneros/espécies de fungos envolvidos. Para os fungos dominantes, *Ilyonectria* spp., selecionaram-se 33 isolados para estudo da variabilidade inter- e intra-específica, com base em características morfológicas, culturais e moleculares.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Isolamento e identificação dos fungos

Colheram-se aleatoriamente 312 videiras (22 amostras) com sintomas de declínio, pertencentes às castas Arinto, Antão Vaz, Chardonnay, Cabernet Sauvignon, Petit Verdot e Touriga Nacional. Estas plantas eram provenientes de três viveiros comerciais distintos, dois nacionais e um estrangeiro, identificados neste trabalho como viveiro 1 (Viv.1), viveiro 2 (Viv.2), viveiro 3 (Viv. 3). Cada planta foi cortada transversalmente no nível basal e realizaram-se isolamentos microbiológicos, a partir de seis fragmentos de tecido do lenho necrosado, perfazendo um total de 1872 fragmentos analisados. Os isolamentos e identificação dos géneros de fungos foram realizados de acordo com REGO (2004).

2.2 Caracterização morfocultural e molecular de isolados semelhantes a *Ilyonectia* spp.

Estudaram-se 33 isolados semelhantes a *Ilyonectia* spp. (Quadro 1), obtidos a partir dos isolamentos anteriormente efectuados. Para a observação das características culturais, utilizaram-se os meios de cultura PDA e OA (SAMUELS & BRAYFORD, 1990) e para a caracterização morfológica os meios SNA e PDA (SAMUELS & BRAYFORD, 1990; BRAYFORD, 1993).

Quadro 1 - Identificação dos isolados semelhantes a *Ilyonectria* obtidos a partir de videiras com sintomas de declínio: casta x porta-enxerto, código do isolado e espécie

Casta x Porta-enxerto	Isolado	Espécie		
Antão Vaz x 110R	Cy246	Ilyonectria torresensis		
Cabernet Sauvignon x 110R	Cy235, Cy236, Cy247, Cy260, Cy262	Ilyonectria torresensis		
	Cy239	"Cylindrocarpon"pauciseptatum		
	Cy258	Ilyonectria macrodidyma		
Chardonnay x 110R	Cy234, Cy237, Cy251	Ilyonectria torresensis		
	Cy250	Ilyonectria macrodidyma		
Petit Verdot x 110R	Cy238	"Cylindrocarpon"pauciseptatum		
	Cy241	Ilyonectria europaea		
	Cy244, Cy264	Ilyonectria macrodidyma		
	Cy245	Ilyonectria torresensis		
	Cy252, Cy253, Cy254, Cy255, Cy256, Cy257	Ilyonectria liriodendri		
Touriga Nacional x 110R	Cy233	Ilyonectria vitis		
	Cy242, Cy248, Cy249, Cy259, Cy261, Cy263, Cy265	Ilyonectria torresensis		
	Cy243	Ilyonectria estremocensis		
Touriga Nacional x 140RU	Cy240	Ilyonectria torresensis		

Após extracção do DNA dos isolados, segundo o protocolo de Cenis (1992), a variabilidade genética foi avaliada com recurso a marcadores aleatórios ISSR ("Inter-Single Sequence Repeat") e RAPD ("Random Amplified Polymorphic DNA"). Usaram-se quatro iniciadores RAPD, OPA-09, OPA-10, OPB-01 e OPD-13 e quatro iniciadores ISSR, HVH(TG)₇, (AG)₈YT, (TCC)₅ e MR, de acordo com metodologia descrita por TALHINHAS *et al.* (2003).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Isolamento e identificação dos fungos

Para um conjunto de 22 amostras, constituídas por um número variável de videiras com sintomas de declínio (312 plantas), verificou-se que os géneros/espécies de fungos isolados eram, para a maioria das amostras analisadas, os mesmos, embora surgissem com incidência e severidade variáveis. A incidência mais elevada foi registada para fungos *Ilyonectria* spp. com um valor médio de 37%, variando entre 13% e 53%. Quanto à incidência média de Botryosphaeriaceae, *Pa. chlamydospora* e *Phomopsis* sp., estas foram de 16%, 11% e 2%, respectivamente. Relativamente à severidade, registou-se 9% para *Ilyonectria* spp., 4% para Botryosphaeriaceae, 2% para *Pa. chlamydospora* e 0,3% para *Phomopsis* sp. (Quadro 2).

Quadro 2 - Incidência(I) e severidade (S) de fungos isolados de tecidos do lenho de videiras com sintomas de declínio

			ectria	Botr.	yosph.		noniella		iopsis
Amostra	Nº de plantas	I(%)	S (%)	I(%)	S (%)	I(%)	S(%)	I(%)	S(%)
1	15	53	19	0	0	0	0	7	1
2	16	50	14	25	6	0	0	0	0
3	15	20	4	20	3	20	4	0	0
4	8	13	1	38	10	0	0	0	0
5	15	33	13	0	0	0	0	7	1
6	15	53	9	13	2	27	2	0	0
7	15	13	6	13	7	7	1	0	0
8	14	36	9	7	2	14	1	0	0
9	11	27	5	18	6	18	2	0	0
10	13	47	12	47	14	7	1	7	1
11	15	40	8	20	7	0	1	0	0
12	15	40	9	13	2	13	2	0	0
13	15	47	11	0	0	13	1	0	0
14	13	46	19	0	0	0	0	0	0
15	13	38	6	8	1	23	3	0	0
16	16	33	9	33	7	7	1	0	0
17	14	27	5	7	1	7	2	0	0
18	15	53	8	7	2	0	0	7	1
19	13	23	6	8	1	8	2	0	0
20	18	39	11	22	7	13	5	7	1
21	15	40	9	53	17	20	4	7	1
22	13	46	11	8	1	7	1	0	0
	Média	37	9	16	4	11	2	2	<1

Quanto à incidência e severidade dos fungos do lenho, relativamente à proveniência dos materiais (três viveiristas), os valores foram similares, ocorrendo em todos eles e por ordem decrescente de importância: *Ilyonectria*, Botryosphaeriaceae, *Pa. chlamydospora* e *Phomopsis*. Ainda assim, a incidência de *Ilyonectria* spp. nas plantas do viveiro 1 foi ligeiramente superior à dos restantes viveiros, embora a severidade tenha sido equivalente (Figura 1). Globalmente, os resultados estão em concordância com os de outros autores que têm descrito fungos do género *Ilyonectria*, da família Botryosphaeriaceae e *Pa. chlamydospora* como os principais causadores do declínio das vinhas jovens (REGO *et al.*, 2000; PHILLIPS, 2002; GIMÉNEZ-JAIME *et al.*, 2006; HALLEEN *et al.*, 2006b; ALANIZ *et al.*, 2009; GRAMAJE & ARMENGOL, 2011).

Atendendo a que o solo utilizado para a instalação da vinha se encontrava em pousio há alguns anos, os resultados indicam que o declínio registado terá sido uma consequência da utilização de materiais infectados utilizados na plantação. Sendo estes oriundos de dois viveiristas nacionais e um estrangeiro, comprova-se a distribuição geográfica ampla deste complexo de fungos, que conduz a reduções da produtividade e morte das videiras jovens, forçando a replantação das vinhas com consequentes prejuízos avultados.

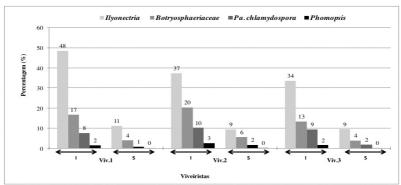


Figura 1 – Incidência (I) e severidade (S) de *Ilyonectria*, Botryosphaeriaceae, *Pa chlamydospora* e *Phomopsis* em enxertos prontos provenientes de três viveiros comerciais, viveiro 1 (Viv.1), viveiro 2 (Viv.2) e viveiro 3 (Viv.3).

3.2 Caracterização dos isolados semelhantes a *Ilyonectria* spp.

De acordo com as características culturais dos isolados, em particular a coloração do micélio, foi possível identificar sete grupos distintos de culturas, que vieram a corresponder às espécies identificadas, variando a cor entre gradações de "chestnut, sienna, orange e saffron". Ambos os meios usados na caracterização cultural se revelaram essenciais nesta distinção, ou por permitirem melhor distinção da cor do micélio (PDA), ou por favorecerem a pigmentação característica da margem da colónia (OA), "saffron a luteus", para algumas das espécies estudadas. A descrição completa das características culturais pode ser consultada em REIS (2010). As observações microscópicas revelaram a presença de micro- e macroconídios nos 21 isolados que esporularam. Os resultados referentes à determinação das características biométricas dos conídios com zero, um, dois e três septos, em meio SNA, apresentam-se no Quadro 3. Foram originados sete grupos de isolados, tendo em conta a morfologia dos conídios e as suas características biométricas

O dendrograma consenso, resultante da análise molecular, efectuada com a totalidade dos marcadores ISSR e RAPD, evidencia o agrupamento dos isolados em várias espécies de *Ilyonectria*, por comparação com 18 isolados-referência, de identidade conhecida (Figura 2).

Quadro 3 - Características biométricas de 21 isolados de *Ilyonectria* spp., comprimento (C) e largura (L), em meio SNA¹, após dez dias de incubação, à temperatura de 20 °C e fotoperíodo de 12 horas

Espécies e		Microconídios (µm)	Macroconídios (µm)		
isolados		0-1 septos ²	1 septo ²	2 septos ²	3 septos ²
I. liriodendri			-		
Cy252, Cy253, Cy254, Cy256	C	(5,7)9,2(14,3)	(12,9)16,7(20,0)	(11,4)21,1(28,6)	(20,0)23,6(30,0)
	L	(1,4)3,5(5,7)	(2,9)4,1(5,7)	(2,9)4,1(7,1)	(2,9)5,4(7,1)
I. macrodidyma					
Cy244, Cy258	C	(7,1)9,4(11,4)	(17,2)20,1(28,6)	(18,6)26,6(34,3)	(20,0)29,1(38,6)
•	L	(2,9)3,6(5,7)	(4,0)5,0(8,9)	(4,3)5,8(7,1)	(5,6)6,6(8,6)
"C." pauciseptatum					
Cy238, Cy239	C	-	(21,1)31,1(43,4)	(25,6)41,7(55,4)	(38,9)45,0(53,9)
	L	-	(3,1)7,0(9,3)	(6,4)7,9(9,3)	(6,7)8,2(9,3)
I. torresensis					
Cy237, Cy240, Cy242, Cy246,	C	(5,7)10,7(14,3)	(12,9)22,3(34,1)	(15,7)27,9(42,6)	(20,0)35,2(48,6)
Cy247, Cy249, Cy259, Cy261,	L	(1,4)3,6(4,3)	(2,9)4,7(6,4)	(4,3)5,4(8,6)	(5,6)6,1(8,6)
Cy262, Cy263		() / / / / / / /	(, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	(, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	(, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,
I. vitis					
Cy233	C	(3,7)5,1(6,7)	(23,7)34,3(46,0)	(37,0)42,5(47,7)	(43,7)45,0(53,7)
	L	(3,2)3,8(4,6)	(5,4)7,5(9,1)	(7,5)8,1(9,0)	(7,6)8,6(9,1)
I. europaeas					
Cy241	C	(3,0)9,1(17,0)	(16,4)22,2(34,0)	(22,0)27,2(34,0)	(22,0)30,8(40,0)
-	L	(1,7)3,4(5,0)	(4,0)5,4(7,8)	(4,4)6,1(8,6)	(5,0)6,7(8,6)
I. estremocensis					
Cy243	C	(12,0)16,6(20,0)	(27,3)30,9(34,1)	(26,4)34,4(42,6)	(34,0)39,0(43,1)
	L	(4,0)4,4(5,0)	(4,1)4,9(5,4)	(4,7)5,5(6,3)	(4,8)5,7(6,5)

¹ SNA – Meio "Spezieller Nährstoffarmer; ² Os valores entre parêntesis correspondem às dimensões mínima e máxima, enquanto o valor intermédio corresponde à média de 30-40 conídios por isolado (10 por tipo de conídio).

O grupo A engloba dois sub-grupos, A1 e A2. No primeiro figuram isolados pertencentes a I. liriodendri e I. robusta e no segundo isolados pertencentes a I. europaea e I. pseudodestructans. O grupo B, apoiado por valores de "bootstrap" de 99%, contem espécies do complexo I. macrodidyma, nomeadamente I. macrodidyma, I. novozelandica, I. torresensis e I. alcacerensis. No grupo C surgem I. anthuriicola (isolado-referência), Ilyonectria sp. e I. vitis. Esta análise conjunta ISSR-RAPD, possibilitou a identificação de 13 espécies, cada uma delas possuindo um coeficiente de similaridade igual ou superior a 65%. Os isolados oriundos da vinha em estudo repartiram-se por sete espécies distintas (as seis restantes foram geradas pelos isolados-referência), verificando-se uma acentuada predominância de uma espécie em particular, I. torresensis (55%), seguida por I. liriodendri (18%), I. macrodidyma (12%) e "C." pauciseptatum (6%). As restantes espécies, I. estremocensis (Cy243), I. europaea (Cy241) e I. vitis (Cy233), estão representadas por um isolado cada. Uma tão elevada diversidade de espécies, identificada numa mesma vinha, corrobora a hipótese dos materiais vitícolas, oriundos de diferentes locais, serem portadores das espécies predominantes nesses locais. Importa salientar que todas estas espécies são patogénicas para a videira (REGO, 2004; REIS, 2010; CABRAL et al., 2012c) e que a maioria dos materiais vitícolas, nacionais ou estrangeiros, não estão isentos dos principais fungos do lenho da videira.

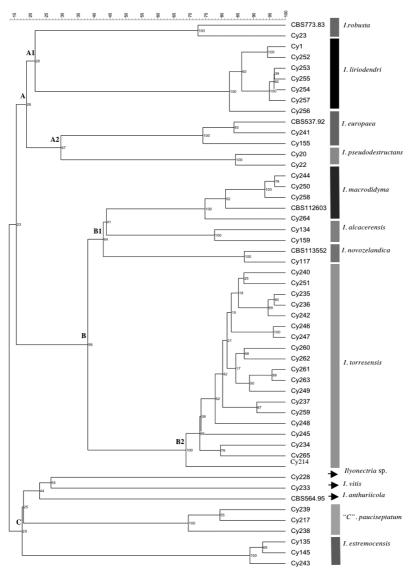


Figura 2 - Dendrograma resultante da análise por RAPD e ISSR de 51 isolados de *Cylindrocarpon* spp., produzido por UPGMA (Método de Agrupamento em Pares Não-balanceados usando Médias Aritméticas) sobre matrizes de similaridade (Dice). Em cada nó representam-se os valores percentuais de "bootstrap" calculados a partir de 2000 repetições da matriz de similaridade. Cy, isolados de *Ilyonectria* spp.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALANIZ *et al.* (2009). Analysis of genetic and virulence diversity of *Cylindrocarpon liriodendri* and *C. macrodidymum* associated with black foot disease of grapevine. *Mycol Res.* 113, 16–23.
- BRAYFORD (1993). Cylindrocarpon. In *Methods for Research in Soilborne Phytopathogenic Fungi*. (L.L. Singleton, J.D. Mihail & C.M. Rush, Eds.) APS, 103–106.
- CABRAL *et al.* (2012a). Multi-gene analysis and morphology reveal novel *Ilyonectria* species associated with black foot disease of grapevines. *Fungal Biol.* 116, 62–80.
- CABRAL et al. (2012b). Cylindrocarpon root rot: multi-gene analysis reveals novel species within the *Ilyonectria radicicola* species-complex. *Mycol. Prog.* 11, 655–682.
- CABRAL *et al.* (2012c). Virulence and cross-infection potential of *Ilyonectria* spp. to grapevine. *Phytopathol. Mediterr.* 51, 340–354.
- CENIS (1992). Rapid extraction of fungal DNA for PCR amplification. *Nucleic Acids Res.* 20, 2380.
- CHICAU et al. (2000). Phaeoacremonium chlamydosporum and Phaeoacremonium angustius associated with esca and grapevine decline in Vinho Verde grapevines in north-west Portugal. Phytopathol. Mediterr. 39, 80-86.
- CRUZ et al. (2005). Doenças do Lenho da videira: resultados de uma prospecção realizada na subregião de Monção na casta Alvarinho. In A Produção Integrada e a Qualidade e Segurança Alimentar. Actas VII Encontro Nacional de Protecção Integrada, 6-7 Dezembro, Coimbra, Portugal, vol 1, 200–208.
- GRAMAJE & ARMENGOL (2011). Fungal trunk pathogens in the grapevine propagation process: potential inoculum sources, detection, identification and management strategies. *Plant Dis*. 95, 1040–1055.
- GIMÉNEZ-JAIME *et al.* (2006). Occurrence of fungal pathogens associated with grapevine nurseries and the decline of young vines in Spain. *J. Phytopathol.* 154, 598–602.
- HALLEEN et al. (2006a). Neonectria liriodendri sp. nov., the main causal agent of black foot disease of grapevines. Stud. Mycol. 55, 227–234.
- HALLEEN et al. (2006b). A review of black foot disease of grapevine. Phytopathol. Mediterr. 45, S55–S67.
- LARIGNON & DUBOS (2000). Preliminary studies on the biology of *Phaeoacremonium*. *Phytopathol. Mediterr.* 39, 84–89.
- MUGNAI *et al.* (1999). Esca (Black Measles) and Brown Wood Streaking: two old and elusive diseases of grapevines. *Plant Dis.* 83, 404–418.
- OLIVEIRA et al. (2004). Decline of young grapevine caused by fungi. Acta Hort. 652, 295-304.

- PHILLIPS (2002). Botryosphaeria species associated with diseases of grapevine in Portugal. Phytopathol. Mediterr. 41, 3–18.
- REGO (2004). Estudo e caracterização de fungos do género Cylindrocarpon (Neonectria) responsáveis pelo pé negro da videira. Dissertação apresentada ao Lab. Pat. Veg. Veríss. Almeida para acesso à categoria de Investigador Auxiliar, ISA, UTL, 228 pp.
- REGO et al. (2000). Involvement of *Phaeoacremonium* spp. and *Cylindrocarpon destructans* with grapevine decline in Portugal. *Phytopathol. Mediterr.* 39, 76–79.
- REGO *et al.* (2006). Fungi associated with young vine decline in Portugal: results of nine years surveys. *Bulletin OILB/SROP* 29, 123–126.
- REGO et al. (2009). Diseases incited by Botryosphaeriaceae fungi in Portuguese vineyards. Phytopathol. Mediterr. 48, 181.
- REIS (2010). Caracterização de fungos do género Cylindrocarpon obtidos numa vinha com sintomas de declínio. Dissertação para obtenção do grau de mestre em Engenharia Agronómica, ISA, UTL, 71 pp.
- SAMUELS & BRAYFORD (1990). Variation in Nectria radicicola and its anamorph Cylindrocarpon destructans. Mycol Res. 94, 433–442.
- SCHROERS *et al.* (2008). *Cylindrocarpon pauciseptatum* sp. nov., with notes on *Cylindrocarpon* species with wide, predominantly 3-septate macroconida. *Mycol Res.* 112, 82–92.
- SOFIA et al. (2006). Spatial distribution of esca symptomatic plants in D\u00e3o vineyards (Centre Portugal) and isolation of associated fungi. Phytopathol. Mediterr. 45, S87–S92.
- TALHINHAS *et al.* (2003). AFLP, ISSR and RAPD markers reveal high levels of genetic diversity among lupinus spp. *Plant Breeding* 122, 507–510.
- VAN NIEKERK et al. (2006). Botryosphaeria spp. as grapevine trunk disease pathogens. Phyto-pathol. Mediterr. 45, S43–S54.
- VAZ (2008). Doenças causadas por fungos Botryosphaeriaceae em videira: Caracterização fenotípica e molecular de isolados e sensibilidade a fungicidas. Dissertação para obtenção do grau de mestre em Engenharia Agronómica, ISA, UTL, 79 pp.

PÉ NEGRO DA VIDEIRA: FONTES DE INÓCULO EM VIVEIRO COMERCIAL

Margarida CARDOSO^{1*}; Inês DINIZ^{1*}; Ana CABRAL¹; Cecília REGO¹; Helena OLIVEIRA¹

RESUMO

O pé negro é uma importante doença da videira causada principalmente por fungos do género *Ilyonectria*. Estes fungos afetam viveiros vitícolas e vinhas jovens, causando o declínio e morte das plantas. Em viveiro, as contaminações são essencialmente atribuídas a inóculo existente no solo, que pode infetar as plantas durante o processo de enraizamento, e a materiais de propagação infetados. O objetivo do presente estudo foi detetar possíveis fontes de inóculo de *Ilyonectria* spp. e "*Cylindrocarpon*" pauciseptatum, ao longo das diferentes fases do processo de propagação de videira, através de métodos clássicos e moleculares (nested-PCR, multiplex nested-PCR e sequenciação de parte do gene da histona H3). Obtiveram-se resultados positivos para todo o tipo de material vegetal testado, instrumentos de corte, solos (ambos os métodos), uma amostra de ar (método clássico), água dos tanques de hidratação, água da torneira e substrato usado na estratificação (métodos moleculares). A técnica multiplex nested-PCR revelou-se sensível e expedita na identificação simultânea de *I. liriodendri*, complexo *I. macrodidyma* e "*C.*" pauciseptatum. Através da sequenciação de parte do gene da histona H3 foi possível identificar diferentes espécies contidas no complexo *I. macrodidyma*, com destaque para *I. novozelandica*, até aqui desconhecida em Portugal na videira

Palavras-chave: Ilyonectria spp., "Cylindrocarpon" pauciseptatum, viveiro vitícola, Vitis vinifera.

1 - INTRODUÇÃO

O pé negro da videira é uma das principais doenças associadas ao declínio de vinhas jovens, podendo manifestar-se pouco tempo depois da plantação. Os sintomas incluem fraco desenvolvimento radicular, raízes necróticas, necrose na região basal do porta-

¹ CEER, Centro de Engenharia de Biossistemas, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Tapada da Ajuda 1349-017 Lisboa, Portugal, heloliveira@isa.utl.pt.

^{*} Ambos os autores contribuíram igualmente para esta investigação.

enxerto, atraso na vegetação, rebentação fraca e declínio e morte das plantas afetadas (REGO, 1994; HALLEEN et al., 2006a). Embora o declínio de vinhas jovens possa ser atribuído a fatores abióticos, fungos associados ao pé negro e à doença de Petri são considerados os principais responsáveis (OLIVEIRA et al., 2004; GRAMAJE & ARMEN-GOL, 2011). O pé negro é causado por um complexo de fungos, sendo *Ilyonectria lirio*dendri e I. macrodidyma os mais frequentemente relatados (HALLEEN et al., 2004; PETIT & GUBLER, 2005; HALLEEN et al., 2006b; ALANIZ et al., 2007). Também Campylocarpon fasciculare, Campyl. pseudofasciculare (HALLEEN et al., 2004; ABREO et al., 2010; ALANIZ et al., 2011) e "Cylindrocarpon" pauciseptatum (SCHROERS et al., 2008; MARTIN et al., 2011) podem estar envolvidos na doença, mas até à data estes agentes patogénicos têm distribuição geográfica limitada. Por sua vez, I. macrodidyma representa um complexo de espécies englobando I. macrodidyma, bem como I. estremocensis, I. alcacerensis, I. novozelandica e I. torresensis (CABRAL et al., 2012a). Também I. europaea, I. lusitanica, I. pseudodestructans e I. robusta (CABRAL et al., 2012b), anteriormente contidas em Neonectria radicicola, revelaram induzir sintomas de pé negro em videira (CABRAL et al., 2012c).

O material de propagação vegetativa da videira é frequentemente infetado por fungos responsáveis pelo pé negro e ainda por outros, como *Phaemoniella chlamydospora* e *Phaeoacremonium* spp., causadores da doença de Petri (REGO *et al.*, 2000; GUBLER *et al.*, 2004). Estudos realizados sobre esta última doença revelaram que o inóculo pode ser veiculado a partir das plantas mãe de porta-enxertos e disseminado durante as diferentes fases do processo de propagação da videira (GRAMAJE & ARMENGOL, 2011). No que diz respeito aos agentes causais do pé negro, as infeções do material de propagação têm sido essencialmente atribuídas a inóculo existente no solo, que infeta as raízes e a extremidade basal dos porta-enxertos, durante a fase de enraizamento em viveiro (REGO *et al.*, 2001; GUBLER *et al.*, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2004; HALLEEN *et al.*, 2006a). Por sua vez, a ocorrência destes fungos em estacas para enxertar e em garfos tem sido rara (REGO *et al.*, 2001; FOURIE & HALLEEN, 2004), contrastando com infeções severas causadas por fungos Botryosphaeriaceae e *Phomopsis* spp. (REGO *et al.*, 2001; FOURIE & HALLEEN, 2004), facto que contribui para o aumento da suscetibilidade daqueles materiais aos agentes do pé negro (OLIVEIRA *et al.*, 2004).

Para além do solo, de infestantes (AGUSTÍ-BRISACH *et al.*, 2011; REIS & OLIVEIRA, 2013) e em menor escala de estacas para enxertar, pouco se conhece até agora sobre outras hipotéticas fontes de inóculo do pé negro da videira. O presente estudo visou a deteção de possíveis fontes de *Ilyonectria* spp. e "C." pauciseptatum, ao longo das diferentes fases do processo de propagação vegetativa da videira, por métodos clássicos e moleculares, com vista à melhor compreensão do ciclo da doença.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Amostragem e isolamento de fungos

Acompanharam-se as atividades de um viveiro comercial, localizado na região Oeste em Portugal, durante 2010-2011. Foram colhidos para análise estacas para enxertar, varas para garfos, estacas enxertadas (durante a estratificação) e enxertos-prontos (após enraizamento) (Quadro 1), utensílios de corte (tesouras, lâminas de máquinas de enxertia e de guilhotina), ar (câmaras de frio e armazéns), água (torneira e tanques de hidratação), substrato usado na estratificação e solo (vinhas-mãe, viveiros e parcelas em rotação) (Quadro 2).

Salvo indicação em contrário, o isolamento e crescimento de fungos foram obtidos em placas de Petri contendo gelose de batata dextrosada (PDA, Difco, EUA), suplementado com cloranfenicol (250 mg L⁻¹) (PDAC), seguido de incubação na obscuridade a 20°C. As colónias semelhantes a *Ilyonectria* spp. e a "*C*." pauciseptatum foram purificadas e mantidas em PDA até posterior utilização (CARDOSO *et al.*, 2013).

As amostras de solo e substrato foram analisadas pelo método das suspensões-diluições em PDAC e incubadas como descrito previamente. A atmosfera interior de oito câmaras de frio e de três armazéns foi monitorizada em placas contendo PDAC, abertas durante 30 minutos, a cada 15 dias, durante quatro meses. As amostras de água (250 mL cada) foram recolhidas de tanques de hidratação de estacas e de garfos, da torneira usada para encher os tanques de hidratação e da lavagem dos instrumentos de corte (tesouras para corte de estacas, garfos e poda de estacas enxertadas, lâminas de máquinas de enxertar e da guilhotina usada para poda de raízes de enxertos-prontos). De cada amostra, retiraram-se alíquotas de 0,5 mL que foram plaqueadas e incubadas como anteriormente descrito.

O DNA dos materiais vegetais foi extraído de acordo com o protocolo de CENIS (1992), modificado por NASCIMENTO *et al.* (2001). Para extração do DNA a partir das amostras de solo e do substrato seguiu-se em linhas gerais o protocolo SDS (método 2) de DAMM & FOURIE (2005). Para extração de DNA a partir de amostras de água seguiu-se o protocolo descrito por CARDOSO *et al.* (2013).

2.2 - Identificação das espécies isoladas

A identificação dos fungos semelhantes a *Ilyonectria* foi efetuada essencialmente com base em características culturais (REGO, 2004; CABRAL, 2012a; 2012b). Na análise por nested-PCR utilizaram-se, na primeira amplificação, os iniciadores ITS1F/ITS4 e, na segunda, os iniciadores Dest1/Dest4 (HAMELIN *et al.*, 1996), para amplificar fungos do género *Ilyonectria*, de acordo com o procedimento de NASCIMENTO *et al.* (2001). Utilizou-se a técnica multiplex nested-PCR, de acordo com ALANIZ *et al.* (2009), com recurso, na segunda amplificação, a três pares de iniciadores Lir1/Lir2, Mac1/MaPa2 e Paul1/MaPa2, para amplificar respetivamente *I. liriodendri*, o complexo *I. macrodidyma* e "*C.*" *pauciseptatum.* Os produtos de PCR foram separados e corados tal como descrito por NASCIMENTO *et al.* (2001). Uma coleção de 44 isolados de *Ilyonectria* spp., obtida de solos (vinhas-mãe e viveiros), de estacas enxertadas e de enxertos-prontos, foi sequenciada para parte do gene da histona H3, tal como descrito por CARDOSO *et al.* (2013).

3 - RESULTADOS

3.1 - Amostragem do material vegetal

Os resultados da amostragem efetuada a estacas para enxertar e a varas para garfos revelaram a presença de fungos semelhantes a *Ilyonectria* spp. em ambos os tipos de material, através de métodos microbiológicos (Quadro 1). No que diz respeito a estacas enxertadas, de várias combinações casta/porta-enxerto, na fase de estratificação, os resultados mostraram em geral menor incidência de fungos semelhantes a *Ilyonectria* spp., comparativamente à incidência assinalada em materiais colhidos de plantas-mãe. Por fim, a análise de enxertos prontos revelou a presença de *Ilyonectria* spp. e/ou de "C." *pauciseptatum* predominantemente na base do porta-enxerto, mas também ao nível do garfo. Para as combinações casta/porta-enxerto avaliadas durante a estratificação e após enrai-

zamento em viveiro, a incidência de fungos responsáveis pelo pé negro foi superior nesta última fase (Quadro 1).

Os métodos moleculares revelaram-se mais sensíveis do que os microbiológicos e, no seu conjunto, permitiram detetar, ao nível dos garfos, incidências de pé negro comparáveis às registadas na base do porta-enxerto. Os resultados obtidos pelo uso dos iniciadores Lir1/Lir2, Mac1/MaPa2 e Paul1/MaPa2 revelaram que a maioria dos materiais vegetais estavam simultaneamente infetados por *I. liriodendri* e pelo complexo *I. macrodidyma* (Quadro 1). Infeções singulares protagonizadas pelo complexo *I. macrodidyma* foram maioritariamente detetadas ao nível dos porta-enxertos, enquanto as de *I. liriodendri* foram detetadas sobretudo ao nível dos garfos. Em estacas enxertadas (estratificação), a proporção dos fungos referidos, isoladamente ou em combinação, foi similar quer para a região do porta-enxerto quer do garfo. "*C.*" pauciseptatum foi apenas detetado em enxertos-prontos, na base do porta-enxerto, isoladamente ou em combinação com *Ilvonectria* spp.

3.2 - Solos e substrato

Fungos *Ilyonectria* spp. e/ou "*C*." *pauciseptatum* foram detetados nos 22 solos analisados, por multiplex nested PCR e em 12 solos pelo método das suspensões-diluições (Quadro 2). O complexo *I. macrodidyma* revelou-se predominante, estando presente em 21 solos, enquanto *I. liriodendri* e "*C*." *pauciseptatum* foram detetados em 11 e quatro solos, respetivamente (dados não mostrados). Nos solos de vinhas-mãe de porta-enxertos, apenas foram detetados fungos do complexo *I. macrodidyma*, contrastando com os resultados obtidos para solos de vinhas-mãe de garfos em que *I. liriodendri* foi detetado isoladamente ou em combinação com fungos do complexo *I. macrodidyma* (Quadro 2). Por sua vez, em solos destinados à plantação de viveiro (em rotação), os agentes do pé negro foram isolados de quatro solos, embora estivessem presentes nos seis analisados, tal como revelado pelos métodos moleculares. Nestes solos, o complexo *I. macrodidyma* esteve presente em todas as amostras e *I. liriodendri* surgiu em cinco.

Quadro 1 - Deteção de *Ilyonectria liriodendri*, complexo *I. macrodidyma* e "*Cylindrocarpon*" pauciseptatum em amostras de diferentes materiais vitícolas, por isolamento microbiológico e métodos moleculares

			Multiple	Multiplex Nested PCR			
Tipo de Material	Isolamento	Nested PCR	I. lir.	I. macro.	"C." pauci.	Nº Total de Amostras	
Estacas para enxertar ¹	9	22	22	22	0	30	
Garfos ²	8	13	13	13	0	30	
Estacas enxertadas ³	Estacas enxertadas ³						
porta-enxerto	5	39	39	39	0	50	
garfo	1	26	26	26	0	50	
Enxertos-prontos ⁴							
porta-enxerto	31	65	59	65	19	110	
garfo	11	37	37	34	0	100	

¹1103P e 110R; ²Touriga Nacional e Aragonês, ³Cinco combinações casta x porta-enxerto; ⁴Onze combinações casta x porta-enxerto (Cardoso *et al.*, 2013).

Durante a fase de enraizamento, nas amostras de solo colhidas de dois solos de viveiro detetou-se por multiplex nested PCR fungos do complexo *I. macrodidyma*, em combinação com *I. liriodendri* e/ou "C." pauciseptatum. Nenhum dos agentes patogénicos havia sido isolado por métodos microbiológicos (Quadro 2). Após o enraizamento, cinco de nove amostras originaram resultados positivos por métodos microbiológicos, contrastando com nove positivos por métodos baseados na PCR. O complexo *I. macrodidyma* esteve presente em todos os solos, isoladamente ou em combinação com *I. liriodendri* e "C." pauciseptatum.

No substrato usado para a estratificação, *I. liriodendri* e "*C.*" pauciseptatum foram detetados antes e após utilização do mesmo. No final da estratificação, detetaram-se ainda fungos do complexo *I. macrodidyma*. Nesta matriz, os fungos foram apenas detetados por métodos moleculares (Quadro 2).

3.3 - Ar. água e instrumentos de corte

Em amostras de ar, colhidas de uma câmara de frio de armazenamento de estacas e garfos, foi detetado *I. liriodendri* (Quadro 2). Já em amostras de água, retiradas do furo e dos tanques de hidratação, *I. liriodendri* esteve presente em todas as amostras, enquanto fungos do complexo *I. macrodidyma* apenas estiveram ausentes dos tanques usados para hidratação de garfos. A partir de amostras de água, estes fungos foram somente detetados por métodos moleculares.

Quadro 2 - Deteção de *Ilyonectria liriodendri* (*I. lir.*), complexo *I. macrodidyma* (*I. macro.*) e "Cylindrocarpon" pauciseptatum ("C." pauci.) em amostras de água, substrato, ar, instrumentos de corte e solos de vinhas-mãe e viveiros

		Nº de Amostras Positivas			
Tipo de Amostra	Nº de Amostras	Isolamento	Nested PCR	Multiplex Nested PCR - espécies presentes	
Agua					
Torneira	4	0	4	I. lir., I. macro.	
tanques de hidratação (estacas)	1	0	1	I. lir., I. macro.	
tanques de hidratação (garfos)	1	0	1	I. lir.	
Substrato					
antes da utilização	1	0	1	I. lir., "C." pauci.	
após utilização	1	0	1	I. lir., I. macro., "C." pauci.	
Ar				_	
armazéns	21	0	nd	Nd	
câmaras de frio	56	1	1	I. lir.	
Instrumentos de corte					
porta-enxertos	10	0	5	I. lir.	
garfos	2	0	2	Nd	
estacas enxertadas	8	0	6	I. lir., I. macro.	
máquinas de enxertia	10	0	3	I. lir.	
guilhotina de raízes de enxertos- prontos	1	1	1	I. lir., I. macro., "C." pauci.	
Solos de vinhas-mãe					
porta enxertos	3	1	3	I. macro.	
garfos	2	2	2	I. lir., I. macro.	
Solos de viveiro					
antes da plantação	6	4	6	I. lir., I. macro.	
durante a plantação	2	0	2	I. lir., I. macro., "C." pauci.	
após o arranque	9	5	9	I. lir., I. macro., "C." pauci.	

Em relação a instrumentos de corte, apenas a amostra colhida da guilhotina usada para a poda de raízes de enxertos-prontos originou resultados positivos por métodos microbiológicos. Por análise molecular, foram detetados *I. liriodendri*, o complexo *I. macrodidyma* e "C." pauciseptatum (Quadro 2). Dos restantes instrumentos, incluindo máquinas de enxertia, *I. liriodendri* foi a espécie predominante, e o complexo *I. macrodidyma* foi apenas detetado em tesouras usadas na poda de estacas enxertadas (após estratificação), em combinação com *I. liriodendri*.

3.4 - Identificação de espécies por sequenciação do gene da histona H3

A sequenciação de parte do gene da histona H3 de 44 isolados semelhantes a *Ilyonectria* spp., obtidos de solos e de enxertos-prontos, permitiu identificar uma maior diversidade de espécies, comparativamente à técnica multiplex nested-PCR, e referir a presença de *I. novozelandica*, pela primeira vez em videira, em Portugal (Quadro 3).

Quadro 3 - Origem, código dos isolados e identificação de acordo com os dados da sequenciação de parte do gene da histona H3

Origem	Isolado	Espécie (Hist-H3)
Solos		•
Vinhas-mãe Touriga Nacional	CyMC 1, 3	I. macrodidyma
Vinha-mãe Aragonês	CyMC 4	I. macrodidyma
Vinha-mãe 1103P	CyMC 5, 7, 9,14, 17, 20, 22	I. torresensis
Vinha-mãe 1103P	CyMC 10, 19	I. macrodidyma
Vinha-mãe 1103P	CyMC 69	I. liriodendri
Viveiro após o arranque	CyMC 28,29, 47	I. torresensis
Viveiro após o arranque	CyMC 30, 31	I. macrodidyma
Enxertos-prontos		
Alicante Bouschet x 1103P, garfo	CyMC 34, 35	I. macrodidyma
Alicante Bouschet x 1103P, p.enx.	CyMC 36, 37, 38	I. liriodendri
Alicante Bouschet x 1103P, p.enx.	CyMC 39	Ilyonectria sp. 2
Alicante Bouschet x 1103P, p.enx.	CyMC 45	I. novozelandica
Fernão Pires x 1103P, p.enx.	CyMC 40	Ilyonectria sp.
Fernão Pires x 1103P, p.enx.	CyMC 41	I. macrodidyma
Fernão Pires x 1103P, p.enx.	CyMC 42	I. novozelandica
Fernão Pires x 1103P, p.enx.	CyMC 43, 44	"C." pauciseptatum
Fernão Pires x 1103P, p.enx.	CyMC 46	I. macrodidyma
Jaen x 99R, p.enx.	CyMC 48, 50, 58	Ilyonectria sp.
Jaen x 99R, p.enx.	CyMC 49, 53, 54, 56	I. liriodendri
Moscatel Roxo x 110R, p.enx.	CyMC 61	I. torresensis
Moscatel Roxo x 110R, p.enx.	CyMC 62	I. macrodidyma
Rabigato x 110R p.enx.	CyMC 63, 64	I. liriodendri
Touriga Nacional cl.16 x 1103P, p.enx.	CyMC 65, 66	I. novozelandica

4 - DISCUSSÃO

O estudo realizado fornece evidências de que, para além do solo e das estacas de portaenxertos, também as varas para garfos estão frequentemente infetadas por *I. liriodendri*e pelo complexo *I. macrodidyma*, os agentes causais do pé negro da videira mais amplamente disseminados a nível mundial. O modo de condução das vinhas-mãe de portaenxertos facilita a contaminação das varas, a partir de inóculo existente no solo (GRAMAJE & ARMENGOL, 2011), mas o mesmo não acontece em vinhas-mãe de garfos,
onde o contacto das varas com o solo é esporádico e de curta duração. Assim, não será
de afastar a hipótese de algumas espécies de *Ilyonectria* spp. poderem estar a sofrer disseminação por via aérea.

As infeções mistas do material vegetal por *I. liriodendri* e por fungos do complexo *I.*

macrodidyma foram dominantes e "*C.*" *pauciseptatum* apenas foi detetado em enxertos-prontos (região basal do porta-enxerto), sugerindo que a infeção possa ter ocorrido essencialmente durante o enraizamento em viveiro.

Esporos viáveis de *I. liriodendri* foram capturados no interior de uma câmara de frio, por isolamento em meio de cultura. Por métodos moleculares, a água do furo e dos tanques de hidratação de estacas e de garfos também revelaram contaminação por *I. liriodendri* e/ou *I. macrodidyma* (complexo), indicando a existência de riscos de contaminação de material vegetal são durante o processo de hidratação. Os mesmos fungos foram igualmente detetados em instrumentos de corte, em diferentes fases do processo, com ênfase para a guilhotina usada no corte de raízes de bacelos-enxertados. A partir desta, identificou-se, para além de *I. liriodendri* e do complexo *I. macrodidyma*, a espécie "*C." pauciseptatum*, a qual muito provavelmente terá sido adquirida pelo material vegetal durante a fase de enraizamento no viveiro. A partir de enxertos-prontos a incidência de pé negro foi apreciavelmente elevada nalgumas combinações casta/porta-enxerto, mas o facto mais relevante foi o isolamento e/ou deteção de fungos *Ilyonectria* spp, a partir do garfo, corroborando o facto de inúmeros garfos usados na enxertia estarem infetados, mas não rejeitando a hipótese de eventual disseminação aérea de pelo menos algumas espécies do género *Ilyonectria*.

A deteção dos agentes causais do pé negro em Espanha, durante as diferentes fases do processo de propagação da videira, conduziu a resultados em tudo semelhantes aos obtidos no presente estudo (AGUSTÍ-BRISACH *et al.*, 2013).

Os fungos do género *Ilyonectria* (CHAVERRI *et al.*, 2011), bem como "*C.*" *pauciseptatum* (SCHROERS *et al.*, 2008), formam clamidósporos que asseguram a respetiva sobrevivência no solo. A legislação em vigor em Portugal impõe um período de rotação em viveiro vitícola, mas os resultados demonstram que, após esse período, ainda existem propágulos viáveis no solo, o que recomenda a realização de estudos sobre quais as culturas a incluir na rotação.

Um conjunto de isolados foi sequenciado (gene da histona H3) no presente estudo, o que permitiu verificar que *I. macrodidyma* (*sensu stricto*) era a única espécie presente em solos de vinhas-mãe de garfos, enquanto em solos de vinhas-mãe de porta-enxertos *I. torresensis* era a espécie dominante, embora *I. macrodidyma* e *I. liriodendri* também

estivessem presentes. Por sua vez, a partir do solo de cinco viveiros vitícolas, após o arranque dos enxertos-prontos, apenas *I. macrodidyma* (sensu stricto) e *I. torresensis* foram identificados, com predominância para *I. torresensis*. Contudo, a análise de enxertos-prontos indicou maior biodiversidade de espécies, designadamente *I. liriodendri*, *I. macrodidyma*, *I. torresensis*, *I. novozelandica*, *Ilyonectria* sp. 2, "C." pauciseptatum e quatro isolados de *Ilyonectria* próximos de *I. cyclaminicola* (CARDOSO et al., 2013). Estes últimos isolados de *Ilyonectria*, tal como *I. novozelandica*, são referidos pela primeira vez em Portugal na videira. Todavia, é de salientar que nenhum destes enxertos-prontos era oriundo dos viveiros anteriores, ficando por esclarecer se foram contaminados por inóculo existente no solo, ou se as contaminações ocorreram em fase anterior. Para concluir sobre o preciso momento em que determinada planta é infetada, será necessário acompanhar mais detalhadamente todo o processo, com início nas vinhas-mãe e finalizando com o arranque e análise dos enxertos-prontos originados pelos materiais colhidos nessas vinhas-mãe.

AGRADECIMENTOS

Estudo financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (PTDC/AGR-AAM/099324/2008).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREO *et al.* (2010). Morphological and molecular characterisation of *Campylocarpon* and *Cylindrocarpon* spp. associated with black foot disease of grapevine in Uruguay. *Australas. Plant Pathol.* 39, 446–452.
- AGUSTÍ-BRISACH *et al.* (2011). Evaluation of grapevine weeds as potential hosts of black foot and Petri disease pathogens. *Plant Dis.* 95, 803–810.
- AGUSTÍ-BRISACH *et al.* (2013). Detection of *Ilyonectria* spp. in the grapevine nursery propagation process in Spain. *Eur. J. Plant Pathol.* (accepted).
- ALANIZ et al. (2007). Characterization of *Cylindrocarpon* species associated with black foot disease of grapevines in Spain. *Plant Dis.* 91, 1187–1193.
- ALANIZ et al. (2011). First report of Campylocarpon fasciculare causing black foot disease of grapevine in Spain. Plant Dis. 95, 1028–1029.

- CABRAL *et al.* (2012a). Multi-gene analysis and morphology reveal novel *Ilyonectria* species associated with black foot disease of grapevines. *Fungal Biol.* 116, 62–80.
- CABRAL et al. (2012b). Cylindrocarpon root rot: multi-gene analysis reveals novel species within the *Ilyonectria radicicola* species-complex. *Mycol. Prog.* 11, 655–682.
- CABRAL *et al.* (2012c). Virulence and cross-infection potential of *Ilyonectria* spp. to grapevine. *Phytopathol. Mediterr.* 51, 340–354.
- CARDOSO *et al.* (2013). Unveiling inoculum sources of black foot pathogens in a commercial grapevine nursery. *Phytopathol. Mediterr.* (accepted).
- CENIS (1992). Rapid extraction of fungal DNA for PCR amplification. Nucleic Acids Res. 20, 2380.
- CHAVERRI et al. (2011). Delimitation of Neonectria and Cylindrocarpon (Nectriaceae, Hypocreales, Ascomycota) and related genera with Cylindrocarpon-like anamorphs. Stud. Mycol. 68, 57–78.
- DAMM & FOURIE (2005). A cost-effective protocol for molecular detection of fungal pathogens in soil. S. Afr. J. Sci. 101, 135–139.
- FOURIE & HALLEEN (2004). Occurrence of grapevine trunk disease pathogens in rootstock mother plants in South Africa. *Australas. Plant Pathol.* 33, 313–315.
- GRAMAJE & ARMENGOL (2011). Fungal trunk pathogens in the grapevine propagation process: potential inoculum sources, detection, identification and management strategies. *Plant Dis.* 95, 1040–1054.
- GUBLER et al. (2004). Root disease of grapevines in California and their control. Australas. Plant Pathol. 33, 157–165.
- HALLEEN *et al.* (2004). Novel species of *Cylindrocarpon* (*Neonectria*) and *Campylocarpon* gen. nov. associated with black foot of grapevines (*Vitis* spp.). *Stud. Mycol.* 50, 431–455.
- HALLEEN et al. (2006a). A review of black foot disease of grapevine. Phytopathol. Mediterr. 45S, 55–67.
- HALLEEN et al. (2006b). Neonectria liriodendri sp. nov., the main causal agent of black foot disease of grapevine. Stud. Mycol. 55, 227–234.
- HAMELIN *et al.* (1996). Identification of root rot fungi in nursery seedlings by nested multiplex PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 4026-4031.
- MARTIN et al. (2011). First report of *Cylindrocarpon pauciseptatum* associated with grapevine decline from Castilla y León, Spain. *Plant Dis*.95, 361.

- NASCIMENTO *et al.* (2001). Detection of *Cylindrocarpon* black-foot pathogens in grapevine by nested PCR. *Phytopathol. Mediterr.* 40S, 357-361.
- OLIVEIRA et al. (2004). Decline of young grapevines caused by fungi. Acta Hort. 652, 295-304.
- PETIT & GUBLER (2005). Characterization of *Cylindrocarpon* species, the cause of black foot disease of grapevine in California. *Plant Dis*. 89, 1051–1059.
- REGO (1994). Nova e grave doença da videira em Portugal. Agente responsável: Cylindrocarpon destructans (Zins.) Scholten. Publ. Lab. Pat. Veg. Veriss. Almeida 67, 1–4.
- REGO et al. (2000). Involvement of *Phaeoacremonium* spp. and *Cylindrocarpon destructans* with grapevine decline in Portugal. *Phytopathol. Mediterr.* 39, 76–79.
- REGO *et al.* (2001). First approach on the understanding of inoculum sources of *Cylindrocarpon destructans* and *Phaeomoniella chlamydospora* concerning grapevine rootstocks in Portugal. *IOBC/WPRS Bull.* 24, 67–72.
- REIS & OLIVEIRA (2013). Agentes causais do pé negro da videira associados a raízes de infestantes da vinha. In *Actas 9º Simpósio Vitivinicultura do Alentejo* (presente volume).
- SCHROERS *et al.* (2008). *Cylindrocarpon pauciseptatum* sp. nov., with notes on *Cylindrocarpon* species with wide, predominantly 3-septate macroconidia. *Mycol. Res.* 112, 82–92.

CYFLAMID - UM NOVO ANTI-OÍDIO PARA A VINHA

João BARRETO 1

RESUMO

CYFLAMID é um novo fungicida anti-oídio cuja substância activa - ciflufenamida – pertence à nova família química fenilacetamida. A ciflufenamida apresenta acção sobre várias espécies de Ascomicetas as quais se destacam os oídios (em várias culturas) e *Monilia* spp. O produto é penetrante, com mobilidade translaminar e acção de vapor e tem actividade preventiva e curativa. CYFLAMID é apresentado sob a forma de emulsão óleo em água (EW) com 51,3 g/L de ciflufenamida e está homologado para o controlo dos oídios da videira e macieira.

São descritas sumariamente as principais características físico-químicas, toxicológicas e ecotoxicológicas do produto e/ou substância activa bem como as características biológicas, com especial destaque para o espectro de acção e modo de utilização.

Palavras-chave: ciflufenamida, Cyflamid, oídio.

1 - INTRODUÇÃO

CYFLAMID é um fungicida, apresentado como emulsão óleo em água com 51,3 g/L ou 5% (p/p) de ciflufenamida, cuja substância activa, pertencente à família química das fenilacetamidas, foi descoberta pela empresa japonesa NIPPON SODA.

A ciflufenamida é uma substância activa com propriedades fungicidas para o controlo de largo espectro de oídios em diferentes culturas, como sejam, a videira, pomóideas, cereais, cucurbitáceas e outras. (HARAMOTO, *et al.*, 2006a). Pertence ao novo grupo químico das fenilacetamidas sendo a única representante deste grupo em comercialização. Possui um modo de acção totalmente novo não apresentando resistências cruzadas com os outros anti-oídios conhecidos, como sejam as estrobilurinas, triazóis, morfolinas, etc. (HARAMOTO, *et al.* 2006c). A ciflufenamida é absorvida pelas folhas, penetrando e distribuindo-se uniformemente pelos tecidos da planta. É dotada de mobilidade

199

¹ SIPCAM PORTUGAL - Rua da Logística, 1 - 2050-542 Vila Nova da Rainha - sipcamportugal@sipcam.pt

Livro Actas

translaminar e acção de vapor e apresenta acção preventiva e curativa na fase inicial da infecção.

Em Portugal o CYFLAMID está, neste momento, aprovado para o controlo do oídio da videira e o oídio da macieira. As suas principais características físico-químicas, toxico-lógicas (NISSO, 2011) e biológicas são descritas nos pontos seguintes.

2 - CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUIMICAS

2.1 - Substância activa

Nome vulgar: ciflufenamida

Nome químico: (Z)-N-[α -(ciclopropilmetoxiimino)-2,3-difluoro-6-(trifluorometil)

benzil]-2-fenilacetamida

Fórmula empírica: C₂₀H₁₇F₅N₂O₂

Peso molecular: 412.36

Nº CAS: 180409-60-3

Fórmula de estrutura:

F NO O

Coeficiente de partição n-Octanol/água: LogP_{O/w} = 4,70

Solubilidade em água: Insolúvel, mas facilmente emulsionável

2.2 - Produto formulado

Nome: CYFLAMID

Formulação: Emulsão óleo em água (EW) com 51,3 g/L ou 5% (p/p) de ciflufenamida

Aparência: líquido viscoso de cor esbranquiçada a amarela clara

Densidade (20°C): 1.028 g/L

Estabilidade ao armazenamento: O produto é estável durante, pelo menos, dois anos,

em condições normais de armazenamento, humidade e arejamento.

3 - CARACTERÍSTICAS TOXICOLÓGICAS E ECOTOXICOLÓGICAS

3.1 - Estudos toxicológicos e ecotoxicológicos

A ciflufenamida, formulada como emulsão óleo em água com 51,3 g/L, apresenta um perfil toxicológico favorável, com uma toxicidade aguda para mamíferos relativamente baixa. Não foram também detectados efeitos negativos a longo prazo (carcinogenia, mutagenia, etc.). Os principais valores dos estudos de toxicidade aguda e de longo prazo são indicados no Quadro 1.

Os resultados dos principais estudos ecotoxicológicos, nomeadamente os efeitos sobre aves, peixes e abelhas são resumidos no Quadro 2

Quadro 1 - Características toxicológicas

Oral - DL ₅₀ (rato): > 5000 mg/kg	Irritação cutânea: Irritante
Cutânea - DL ₅₀ (rato): > 2.000 mg/kg	Irritação ocular: Não irritante
Inalação - CL ₅₀ (4 h rato): > 4,41 mg/L	Sensibilização cutânea: Negativa
Toxicida crónica/carcinogenia: Negativa. NSEAO (rato): 4,4 mg/kg/dia (macho) e 5,5 mg/kg/dia (fêmea)	Toxicidade reprodução e desenvolvimento: Negativa
Mutagenia: Negativa	Neurotoxicidade: Negativa

Quadro 2 - Estudos ecotoxicológicos

DL ₅₀ oral aguda em codorniz: >2000 mg/kg	E _b C ₅₀ (72 h) em algas: 1628 mg/L
CL 50 (96h) em truta:> 9,84 mg/L	DL ₅₀ contacto em abelhas: >15,5 μg/abelha
EC ₅₀ (48 h) em Daphnia magna: 9,48 mg/L	DL ₅₀ oral em abelhas: >15,5 μg/abelha

3.2 – Efeito sobre os auxiliares

Para além das espécies já indicadas, foram também avaliados os efeitos adversos sobre organismos não visados, nomeadamente *Typhlodromus pyri, Aphidius rhopalosiphi, Chrysoperla carnea* e *Poecilus cupreus*. Para todos eles o valor de DL₅₀ é superior à dose máxima recomendada (25 g s.a./ha).

Dos resultados apresentados, pode-se concluir que em condições normais de aplicação no campo não são de prever efeitos inaceitáveis sobre as abelhas e outros artrópodes não visados, na sequência da aplicação de CYFLAMID nas condições previstas no rótulo.

4 - CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS

4.1 - Espectro de acção

O espectro de acção da ciflufenamida foi investigado em diversos ensaios laboratoriais e de campo, tendo-se demonstrado que apresentava acção sobre várias espécies de fungos, sobretudo Ascomicetas e mitospóricos, em numerosas culturas, tais como, vinha, pomóideas, prunóideas, cereais, hortícolas, beterraba, etc. (HARAMOTO *et al.*, 2006a) Nos Quadros 3 e 4 são indicados alguns dos vários fungos testados e os resultados obtidos em cada caso (HARAMOTO *et al.*, 2006a).

Quadro 3 - Actividade fungitóxica da ciflufenamida sobre vários fungos patogénicos (método de diluição em agar)

Fungo	EC ₅₀ (ppm)	Fungo	EC ₅₀ (ppm)
Alternaria alternata	> 100	Helicobasidium mompa	> 100
Botrytis cinerea	> 100	Monilinia fructigena	0.01
Botrytis squamosa	100	Penicillium italicum	7
Botryosphaeria sp.	0.07	Pestalotia longiseta	> 100
Cercospora beticola	0.3	Phomopsis sp.	> 100
Cercospora kikuchii	1	Phytophthora infestans	> 100
Cladosporium cucumerinum	> 100	Pyricularia oryzae	3
Cochliobolus miyabeanus	> 100	Pythium aphanidermatum	> 100
Colletotrichum lagenarium	> 100	Rhizoctonia solani	> 100
Colletotrichum theae-sinensis	> 100	Rosellinia necatrix	0.7
Diaporthe citri	6	Sclerotinia scleotiorum	1
Elsinoe ampelina	5	Septoria nodurum	> 100
Fulvia fulva	> 100	Taphrina deformans	3
Fusarium nivale	0.3	Trichoderma víride	> 100
Fusarium oxysporum	> 100	Valsa ceratosperma	8
Fusarium roseum	> 100	Venturia inaequalis	> 100
Gibberella zeae	> 100	Verticilium dahliae	> 100

Os resultados demonstraram que vários fungos patogénicos, nomeadamente *Erysiphe* spp., *Sphaerotheca* spp., *Podosphaera* spp., *Blumeria* spp., *Monilia* spp., *Cercospora* spp., *Fusarium nivale*, *Rosellinia necatrix* apresentavam sensibilidade à ciflufenamida. Em contraste, os fungos Basidiomicetas eram insensíveis à a esta substância activa, mesmo em concentrações mais elevadas (100 ppm) (HARAMOTO *et al.*, 2006a).

Quadro 4 - Eficácia da ciflufenamida sobre várias espécies causadoras de oídio

Cultura	Doença	Concentração Mínima Inibidora (ppm)
Pepino	Sphaerotheca cucurbitae	< 0.8
Morangueiro	Sphaerotheca aphanis	< 0.8
Pimenteiro	Oidiopsis sicula	< 0.8
Trigo	Blumeria graminis f. sp.tritici	< 0.8
Macieira	Podosphaera leucotricha	< 1.6
Videira	Erysiphe necator	< 1.6
Roseira	Sphaerotheca pannosa	< 1.6

Como se pode observar no Quadro 4, a eficácia sobre várias espécies de oídios é muito elevada. Este facto foi também verificado posteriormente nos numerosos ensaios de campo realizadas em Portugal e noutros países europeus.

4.2 - Modo de acção

A ciflufenamida é o único membro do grupo das fenilacetamidas e, apesar do seu modo de acção ainda não estar completamente determinado, o mesmo é considerado diferente do de outros fungicidas existentes (triazóis, estrobilurinas, morfolinas, etc.).

Os testes efectuados até ao momento, para elucidar o seu modo de acção, nomeadamente o efeito sobre a biossíntese do ergosterol e fosfolípidos, biossíntese de quitina, biossíntese de proteínas, respiração mitocondrial e função da membrana celular, apresentaram resultados negativos não se verificando nenhum efeito sobre qualquer um dos parâmetros testados. Estes resultados e o facto dos testes de resistência cruzada (triazóis, estrobilurinas, morfolinas, etc.) terem sido negativos indiciam que o modo de acção tem, por conseguinte, de ser completamente diferente dos actualmente conhecidos (HARAMOTO et al., 2006c).

Nos testes e observações microscópicas realizadas, observou-se que a ciflufenamida não afecta a germinação os esporos ou a formação dos apressórios. No entanto, inibe fortemente a formação dos haustórios, das colónias e a esporulação de *Blumeria graminis*. Em *Monilia fructigena* não afectou a germinação dos esporos e o alongamento do tubo germinativo até 8 horas após o tratamento. Após 16 horas o alongamento do tubo germinativo parou e observou-se dilatação da sua extremidade, vacuolização e ruptura do citoplasma após 24 horas (SANO *et al.*, 2007).

Nas hifas tratadas com ciflufenamida observam-se alterações ultra-estruturais nos vacúolos (redução dos materiais internos), e septos (menor espessura e tamanho e poros maiores). Não se detectaram diferenças no número e forma das mitocôndrias e núcleo. Observaram-se frequentemente hifas com rupturas e formação de vesículas de vários tamanhos e hifas vacuoladas. (*Monilia fructigena*) (HARAMOTO, *et al.*, 2006a).

Todas estas alterações morfológicas são claramente distintas das provocadas por outros grupos de fungicidas (triazóis, estrobilurinas, etc.).

A ciflufenamida é absorvida pelas folhas, penetrando e distribuindo-se uniformemente pelos tecidos da planta. É dotada de mobilidade translaminar, permitindo a protecção de ambas as faces das folhas e acção de vapor. A grandeza destas actividades é função da espessura da folha, abertura de estomas e temperatura. (HARAMOTO, *et al.*, 2006b). Nos testes laboratoriais e ensaios de campo realizados, a ciflufenamida demonstrou possuir uma excelente acção preventiva contra os oídios, uma boa acção curativa na fase inicial da infecção e uma longa persistência de acção. Apresentou uma reduzida translocação a partir das raízes. (HARAMOTO *et al.*, 2006b).

5 - UTILIZAÇÕES

Foram realizados em diversos países europeus, incluindo Portugal, numerosos ensaios com produtos à base de ciflufenamida (CYFLAMID e/ou outros) contra os oídios de numerosas culturas.

Os resultados obtidos demonstraram a eficácia dos produtos e conduziram às homologações indicadas no Quadro 5.

Qua	idro 5 –	Homologações	nos	diferentes	paises	europeus
			$\overline{}$			

Cultura	Doença	Homologação (País)
Videira	Oídio	Itália, Portugal
Macieira	Oídio	Itália, Bélgica, Reino Unido, Portugal
Pereira	Oídio	Bélgica, Reino Unido
Aboborinha	Oídio	Itália, Reino Unido
Abóbora	Oídio	Itália, Reino Unido
Meloeiro	Oídio	Itália, Reino Unido
Pepino	Oídio	Itália, Reino Unido
Tomateiro	Oídio	Itália
Pimenteiro	Oídio	Itália
Aveia, Cevada, Centeio, Trigo, Triticale	Oídio	Alemanha, Bélgica, França, Reino Unido

5.1 Usos homologados em Portugal

Conforme indicado anteriormente, o CYFLAMID está neste momento aprovado em Portugal para o controlo dos oídios da videira e macieira nas condições indicadas no Quadro 6.

Quadro 6 - Condições de utilização aprovadas em Portugal

Culturas	Doenças	Concentração/Dose de aplicação	Intervalo de Segurança
Videira	Oídio (Erysiphe necator)	50 mL/hL – 500 mL/ha	21 dias
Macieira	Oídio (Podosphaera leucotricha)	50 mL/hL – 500 mL/ha	14 dias

5.2 Época e modo de aplicação

<u>Videira</u> – <u>Oídio (Erysiphe necator)</u>:

Os tratamentos devem ser efectuados de acordo com as indicações do Serviço de Avisos. Na falta destas, iniciar as aplicações a partir dos cachos visíveis.

A persistência biológica é de 12 a 14 dias, reduzindo-se para 10-12 dias no caso de castas mais susceptíveis ou forte pressão da doença. A partir do 'bago de chumbo' as aplicações devem dirigir-se especialmente aos cachos para melhor protecção.

Macieira – Oídio (Podosphaera leucotricha):

Os tratamentos devem ser efectuados de acordo com as indicações do Serviço de Avisos.

Na falta destas, tratar do abrolhamento até ao fim do crescimento dos rebentos.

A persistência biológica é de 7 a 10 dias. O intervalo mais curto deverá ser utilizado em condições mais favoráveis à doença.

5.3 Precauções biológicas/resistência

Todos os esforços no sentido de limitar o desenvolvimento de resistências são de grande importância, sobretudo numa altura em que o número de substâncias activas disponíveis diminuiu consideravelmente. Apesar de nos testes de sensibilidade realizados na Europa (incluindo Portugal) não terem sido detectadas estirpes resistentes à ciflufenamida

(HARAMOTO et al., 2006c), é fundamental que o CYFLAMID seja utilizado em programas que visem não só obter uma boa eficácia dos tratamentos mas também reduzir o aparecimento de resistências. Para se atingir este objectivo, recomenda-se a adopção das seguintes medidas:

- a) Efectuar no máximo duas aplicações anuais com CYFLAMID.
- b) Aplicar o produto preventivamente, antes do estabelecimento das doenças.
- c) Respeitar a dose indicada no rótulo.
- d) Alternar com produtos de diferente modo de acção.

6 – RESÍDUOS

Os ensaios efectuados com base na prática agrícola recomendada levaram ao estabelecimento dos seguintes Limites Máximo de Resíduos:

Uva (vinificação e mesa) – 0,15 mg/kg;

Macieira e pereira – 0,05 mg/kg.

Foi também estabelecida a "import tolerance" para os EUA.

7 – CLASSIFICAÇÃO E PRECAUÇÕES

A classificação e precauções constantes no rótulo do produto são as seguintes:

Ficha de segurança fornecida a pedido de utilizadores profissionais. Manter afastado dos alimentos e bebidas, incluindo os dos animais. Irritante para a pele. Não respirar a nuvem de pulverização. Evitar o contacto com os olhos. Usar luvas adequadas durante a preparação da calda e aplicação do produto. Não comer, beber ou fumar durante a utilização. Não contaminar a água com este produto ou com a sua embalagem. Tóxico para organismos aquáticos, podendo causar efeitos nefastos a longo prazo no ambiente aquático. Para protecção dos organismos aquáticos, respeitar uma zona não pulverizada em relação às águas de superfície de 5 metros em videira e macieira. Após o tratamento lavar cuidadosamente as luvas, tendo cuidado especial em lavá-las por dentro. Intervalo de segurança – 14 dias em macieira; 21 dias em videira. Tratamento de emergência – Em caso de ingestão lavar repetidamente a boca com água (apenas se a vítima estiver consciente), consultar imediatamente o médico e mostrar-lhe a embalagem ou o rótulo.

A embalagem vazia deverá ser lavada três vezes, fechada, inutilizada e colocada em sacos de recolha, devendo estes serem entregues num centro de recepção Valorfito; as águas de lavagem deverão ser usadas na preparação da calda.

Símbolos: Xi – Irritante N – perigoso para o ambiente

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- HARAMOTO, M., YAMANAKA, H., SANO, H., SANO, S., OTANI, H. (2006a). Fungicidal activities of cyflufenamid against various plant-pathogenic fungi. *Journal of Pesticide Science*, 31 (2): 95-101.
- HARAMOTO, M., YAMANAKA, HOSOKAWA, H., SANO, H., SANO, S., OTANI, H. (2006b). Control efficacy of cyflufenamid in the field and its fungicidal properties. *Journal of Pesticide Science*, 31 (2): 116-122.
- HARAMOTO, M., HAMAMURA, H., SANO, FELSENSTEIN, F., OTANI, H. (2006c). Sensitivity monitoring of powdery mildew pathogens to cyflufenamid and evaluation of resistance risk. *Journal of Pesticide Science*, 31 (4): 397-404.
- NISSO Chemical Europe (2011). Cyflufenamid 5% EW EU Safety data sheet.
- SANO, S.; KASAHARA, I.; YAMANAKA, H. (2007). Development of a novel fungicide, cyflufenamid. *Journal of Pesticide Science*, 32 (2): 137-138.

GRAPEVINE FUNGAL TRUNK DISEASES IN THE DÃO WINE REGION

Jorge SOFIA^{1,3}; Teresa NASCIMENTO²; Maria Teresa GONÇALVES³ and Cecília REGO²

SUMMARY

Esca and Petri disease, two of the most important fungal trunk diseases of grapevine, are responsible for significant losses by promoting premature decline and dieback in vineyards worldwide. The Portuguese Dão wine region is not an exception. It has been noticed that local winegrowers' knowledge about Grapevine Trunk Diseases (GTD) in general and of esca and Petri disease in particular is quite incomplete. The real importance of those problems is based mostly on the individual perception rather than on a methodical evaluation of the situation. In order to get a full picture of those diseases' situation, a leaflet with color pictures has been produced and issued to winegrowers, accompanied by a simple questionnaire. The results of this survey represent a first perception of the real situation of grapevine trunk diseases in the Dão wine region, namely its economic impact and relevance for the local wine industry. During that period, several samples of wood, collected from esca and Petri disease symptomatic grapevines, throughout the entire region, were processed and a collection of isolates of Phaeomoniella chlamydospora obtained. To assess the intra-specific variability among these isolates, morphological, cultural and molecular characteristics were evaluated.

Keywords: Esca, survey, Vitis vinifera, Phaeomoniella chlamydospora.

1 - INTRODUCTION

All over the world there is an effort to enhance the knowledge about Grapevine Trunk Diseases (GTD) in order to perceive its possible evolution. In France, there has been an intense work on the evaluation of GTD with the creation in 2003 of the "Observatoire

¹ Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Centro, Estação de Avisos do Dão, 3504-504, Viseu, Portugal.

² CEER, Centro de Engenharia de Biossistemas, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal.

³ Centre for Functional Ecology, Department of Life Sciences, University of Coimbra 3001-401, Coimbra, Portugal.

Nationale des Maladies du Bois de la Vigne", that produces annual reports on GTD surveillance (MAAPAR, 2004). In Portugal, and particularly at the Dão wine region, although conscious of economic losses due to grapevine's deaths or declines in their vineyards, local growers are often incapable of understanding the problems affecting their vines, which are frequently associated with GTD. Symptoms are often attributed to other diseases, nutritional and water deficits, misleading them on management decisions on the affected vineyards.

In former related studies done at the Dão wine region, *Phaeomoniella (P.) chlamy-dospora* (W. Gams, Crous, M. J. Wingf. & L. Mugnai) Crous & W. Gams was frequently isolated both from black and red-brown wood discolouration spots found inside esca affected grapevines and from field spore traps (SOFIA *et al.*, 2006). In the present work our first goal was to improve the knowledge about GTD and to evaluate its frequency in the Dão wine region. On the other hand, in order to assess the intra-specific variability among *P. chlamydospora* isolates from Dão wine region, morphological, cultural and molecular characteristics were evaluated.

2 - MATERIALS AND METHODS

Leaflet and survey

A four page color leaflet was produced with the key symptoms associated with the main GTD commonly found in the Dão wine region – esca, excoriose, black dead arm and young grapevine declines - to promote the growers knowledge on GTD. Simultaneously, local growers were invited to fulfill a simple three step questionnaire where the first step was a question acknowledging the existence of any of the four GTD on their vineyards; the second step was also a question meant to evaluate the frequency of the disease(s) based on three numerical boundary categories (level 1: few vines affected; level 2: some vines affected; level 3: many vines affected) and the third step concerned the location of the vineyard within the region.

Phenotypic characterization

Some of the vineyards identified during the survey were prospected and the frequency of GTD evaluated, in order to determine the accuracy of the answers given and also to collect some wood samples from esca and Petri disease symptomatic grapevines. From

these samples, cross sections were cut from the trunk and typical dark brown to black discolored fragments, usually associated with *P. chlamydospora*, were extracted, surface disinfected by immersion in a 8% solution of NaOCl for 1 min., rinsed with sterile distilled water (SDW), dried with filter paper and placed in Petri dishes containing potato dextrose agar (PDA, Difco, Beckton, Dickinson and Co, Sparks, MD, USA) amended with 250 mg L⁻¹ of chloramphenicol (BioChemica, AppliChem, Germany). Inoculated plates were incubated in the dark for three weeks, at 25±1°C. During this period, plates were under observation and, suspected colonies of *P. chlamydospora* were transferred to PDA.

In this study, a collection of 20 isolates of *P. chlamydospora* obtained from different locations and different scion/rootstock combinations was used, 17 collected within the Dão wine region, two obtained from Vidigueira, Alentejo (Ph19) and Arruda dos Vinhos, Estremadura (Ph24) and one isolate from a Dão's boundary wine region (Ph30) (Table 1).

All isolates were grown in triplicate on PDA, at 25±1°C, in the darkness for 15 days and cultural features (texture, colour, growing margin and zonation) were described according to CROUS and GAMS (2000) and GONZÁLEZ and TELLO (2011).

Table 1 - Isolation details of *Phaeomoniella chlamydospora* isolates studied

Tealante Very of instation Geographical origin Host				
Isolate	Year of isolation	Location Wine region		scion/rootstock
Ph19*	2008	Vidigueira	Alentejo	Petit Verdot/400VO
Ph24*	2011	Arruda dos Vinhos	Estremadura	Touriga Nacional/-
Ph26	2011	Lousã	Beiras	Cerceal/-
Ph27	2011	Nelas	Dão	Jaen/-
Ph28	2011	Mangualde	Dão	Jaen/-
Ph29	2012	Mangualde	Dão	Touriga Nacional/-
Ph30	2012	Nelas	Dão	Jaen/S04
Ph31	2012	Nelas	Dão	Tinta Roriz/S04
Ph32	2012	Nelas	Dão	Alfrocheiro/-
Ph33	2012	Seia	Dão	Jaen/-
Ph34	2012	Tondela	Dão	Aragonês/-
Ph35	2012	Mangualde	Dão	Touriga Nacional/-
Ph36	2012	Mangualde	Dão	Encruzado/-
Ph37	2012	Gouveia	Dão	Gouveio/-
Ph38	2012	Nelas	Dão	Touriga Nacional/-
Ph39	2012	Gouveia	Dão	Jaen/-
Ph40	2012	São Martinho da Cortiça	Dão	Baga/-
Ph41	2012	Viseu	Dão	Encruzado/-
Ph42	2012	Mangualde	Dão	Jaen/-
Ph43	2012	Viseu	Dão	Jaen/-

*isolates formerly identified and characterized.

Daily growth and colony mean diameters were obtained after 25 days by measuring two perpendicular diameters for each colony and calculating mean diameters. For each isolate, six replications were taken. Micromorphological features, such as hyphal morphology and the number of conidia produced, were evaluated according to WHITING *et al.* (2001) and GONZÁLEZ and TELLO (2011), respectively.

Molecular characterization

For each isolate, DNA was extracted from cultures grown on potato dextrose broth (PDB; Difco) using the protocol of CENIS (1992) adapted by NASCIMENTO et al. (2001). To study the genetic diversity among *P. chlamydospora* isolates the inter-simple sequence repeat (ISSR) analysis was used. The ISSR primers (AG)₈YT (FANG and ROSE, 1997), (CAG)₅ (RODRIGUEZ and YODER, 1991), HVH(TG)7 (GILBERT et al., 1999) and MR (5'-GAGGGTGGCGGTTCT-3') (BRIDGE et al., 1997) were used. Each PCR reaction contained 1x PCR buffer, 3.0 mM MgCl₂, 200 μM of each dNTP, 0.5 μM of each primer, 0.8 U of DreamTaq DNA Polymerase (MBI Fermentas, Vilnius, Lithuania), and 3 μL of diluted template DNA in a final volume of 20.0 μL. Amplifications were performed in a "Biometra T-Gradient", with an initial step of 4 min at 94°C, followed by 40 cycles of denaturation at 94°C for 30 s, annealing at 50°C (CAG)₅ and MR or 52°C (AG)₈YT and HVH(TG)₇ for 45 s, and an elongation at 72°C for 2 min. A final extension was performed at 72°C for 10 min (TALHINHAS et al., 2003). Reactions without DNA were used as negative controls, and each reaction was repeated at least once. Amplification products were separated by electrophoresis in 2.0% agarose gels in 0.5x TBE buffer at 40V for 19h. A GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder (MBI Fermentas) was used as a molecular weight marker. Gels were stained with ethidium bromide and visualized under UV light, followed by digital image capturing using an UVIdoc system (UVItec Limited, Cambridge, UK). The banding patterns were analyzed with GelCompar II Version 5.10 software package (Applied Maths, Saint-Martens-Latem, Belgium). DNA bands detected by the software were verified by visual examination to correct unsatisfactory detection, and the presence (1) or absence (0) of bands was recorded in a binary matrix. Genetic similarities were calculated using the Dice coefficient and dendrograms obtained by clustering according to the unweighted pairgroup method using arithmetic averages (UPGMA). The robustness of the branches was assessed by bootstrap analysis with 2,000 replicates.

3 - RESULTS

Leaflet and survey

During the 2011/2012 survey a total of 62 questionnaires were considered completely fulfilled and validated. It was clear from results that esca was the most well-known GTD of the four explained on the leaflet, with positive recognition of its presence in more than 88% of the vineyards (Table 2). Concerning the frequency of esca, level 1 of disease frequency was recorded in 80% of the vineyards, level 2 in 16% and level 3 only in 5% of the vineyards (Table 3).

The second most recognizable disease among the inquired was excoriose with 82% of the fulfilled forms confirming its presence. Only 16% of the inquired winegrowers answered that they had never noticed the disease on their vineyards and 2% did not know the disease (Table 2). Regarding frequency of excoriose, 46% of the inquired winegrowers considered it present although affecting a scarce number of vines (level 1), 41% considered it was affecting an important number of plants (level 2) and 12% considered it a serious problem (level 3) (Table 3).

The third identifiable disease for the inquired was black dead arm (BDA) with 58% of the fulfilled forms confirming its presence; 34% of the inquired winegrowers answered that they had never noticed the disease on their vineyards and 8% did not know the disease (Table 2). Concerning the frequency of black dead arm, 72% of the surveyed winegrowers considered it present on their vineyards, but affecting a small number of plants (level 1), for 24% it was affecting some of plants (level 2) and only 3% considered it a severe problem for their vineyards (level 3) (Table 3).

Finally, for young vine decline, 30% of the winegrowers recognized its presence on their vineyards, while 60% never acknowledged the disease on their vineyards and 10% where not familiar with the disease (Table 2). In relation to frequency of young vine decline, 87% of the inquired considered that it was affecting a scarce number of plants (level 1) and 13% considered that it was present in some of plants (level 2) (Table 3).

Table <u>3</u>. Survey on the situation of grapevine trunk diseases in Dão wine region

	Do you find it in your vineyard? (%) ^a		
Disease	Yes	No	Don't known
Esca	88	12	0
Excoriose	82	16	2
Black dead arm	58	34	8
Young vine decline	30	60	10

*Results of a total of 62 questionnaires considered completely fulfilled and validated.

Table 2. Frequency of grapevine trunk diseases in Dão wine region: level 1 - affects few vines; level 2 - affects some vines; level 3 - affects many vines

	Frequency (%) ^a			
Disease	Level 1	Level 2	Level 3	
Esca	80	16	5	
Excoriose	46	41	12	
Black Dead Arm	72	24	3	
Young vine decline	87	13	0	

^a For each of the diseases, frequency was determined considering only the number of questionnaires that acknowledged the existence of the disease. Figures rounded to the next integer.

Phenotypic characterization

After 25 days of growth, P. chlamydospora isolates produced characteristic colonies with a felty texture and zonation absent. However, it was noticeable that the morphology of the colonies was found to be variable among the 20 isolates under study and four morphological groups were recognized (Table 4). Group I shared colony characters such as an olive-grey color, an even growing margin and the existence of predominant filamentous somatic hyphae in PDA. Colonies of Group II exhibited olive-grey to white color towards the edge, an even growing margin producing filamentous, aerial somatic mycelium. Isolates of group III had olive-grey to white color towards the edge, an uneven growing margin and they produced filamentous, aerial somatic mycelium. Finally, Group IV had an olive-grey color with the pigment concentrically distributed; an even growing margin and it produced filamentous, aerial somatic mycelium. Mycelial growth rates did not differ significantly among *P. chlamydospora* isolates, and not even within the four mentioned groups. Phaeomoniella chlamydospora isolates produced the characteristic conidia and chlamydospora-like structures of such species. Sporulation rates of the different isolates showed a large range of variation (from 2.0 to 14.6 x 10⁶conidia mL⁻¹). Daily growth rate at 25°C ranged from 0.7 to 1.4 mm and the growth diameter at 25°C, after 25 days varied from 17.3 to 34.30 mm (Table 5).

Table 4. Distribution of the twenty *Phaeomoniella chlamydospora* isolates among the four morphological groups according to the phenotypic characteristics for each group

Group	Isolates	Textur e	Colour	Growing margin	Zonation	Hyphal morphology
I	Ph19, Ph24, Ph26, Ph28, Ph33, Ph34, Ph37, Ph40, Ph41	felty	olive-grey	even	absent	filamentous somatic hyphae predominant
II	Ph27, Ph32, Ph35, Ph36, Ph39	felty	olive-grey to white towards the edge	even	absent	filamentous somatic hyphae predominant, aerial mycelium scanty
III	Ph38, Ph42, Ph 43	felty	olive-grey to white towards the edge	uneven	absent	filamentous somatic hyphae predominant, aerial mycelium scanty
IV	Ph29, Ph30, Ph31	felty	olive-grey; pigment distributed concentrically	even	absent	filamentous somatic hyphae predominant

Table 5. Mean, maximum and minimum values of the phenotypic variables studied for all the *Phaeomoniella* chlamydospora isolates

Phenotypic variable	Mean a	Maximum	Minimum
Sporulation (x 106conidia mL-1)	5.90	14.60	2.00
Daily growth rate (mm) at 25°C	1.20	1.40	0.70
Growth (mm) at 25°C, after 25d	30.00	34.30	17.30

aMean of two independent sets of six replicates for each isolate

Molecular characterization

The four ISSR primers tested were able to generate amplification products for all isolates of *P. chlamydospora*. A consensus dendrogram was generated from analysis of all markers (Figure 1). The isolates studied were clustered with *P. chlamydospora* isolates Ph19 and Ph24 with about 82% similarity. This confirms that all the isolates collected in Dão wine region belong to the same species. *Phaeomoniella chlamydospora* isolates were clustered into two groups supported by low bootstrap values, 48% and 54% respectively. The similarity level between groups, around 87%, indicates a low intra-specific genetic diversity. No relationship was found between ISSR band patterns and origin or scion/rootstock combination of isolates and the different groups formed.

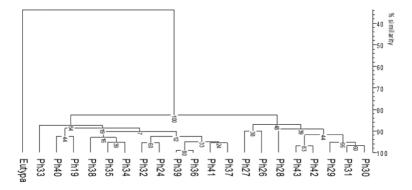


Figure 1. UPGMA cluster analysis based on Dice coefficient of ISSR fingerprints from the isolates of *Phaeomoniella chlamydospora* with the primers (AG)8YT, (CAG)5, HVH(TG)7 and MR. Numbers at the nodes represent bootstrap support values (2,000 replicates). One *Eutypa lata* isolate was used as outgroup.

4 - DISCUSSION

After a year of public divulgation of the GTD leaflet, it was our perception, based on observation of cultural practices like signalization, removing and destruction of symptomatic vines, or in the number of questions on the subject, that winegrowers within the Dão wine region have improved their knowledge on GTD, its symptoms and general management of the diseases.

Previous work, based on a survey on grapevine trunk diseases (TOMAZ et al., 1989), considered esca as the main GTD, having also pointed out for that region the importance of excoriose caused by *Phomopsis viticola* (Sacc.) Sacc. Also, a new emerging disease, designated as European excoriose, caused by *Macrophoma flaccida* (Viala & Ravaz) Cavara (≡ *Fusicoccum aesculli* Corda) was also identified in the area (TOMAZ and REGO, 1990).

The presented survey has provided an overview of the phytosanitary status of grapevines within the Dão wine region especially concerning GTD. The occurrence of these fungal diseases in Dão's vineyards is unequivocal, although their frequency and incidence in the vineyards are not high enough to become a matter of urgent concern. Although recognized, esca and excoriose are not affecting a significant number of vineyards. The high level of knowledge of these two diseases might be related with the above referred works (TOMAZ *et al.*, 1989; TOMAZ and REGO, 1990) that had large divulgation at the time. Oppositely, BDA caused by Botryosphaeriaceous fungi is not as well known.

The abandon of viticulture and the existence of few areas of new plantations registered on this wine region in the last years (FALCÃO, 2012; INSTITUTO DA VINHA E DO VINHO [on-line], 2012), reduced the potential appearance of young plants showing young vine decline symptoms.

Worldwide, *P. chlamydospora* has been regarded as the most important fungus associated with esca and Petri disease (RIDGWAY *et al.*, 2005; TELLO *et al.*, 2010) together with *Phaeoacremonium* spp. In Portugal, several studies have been focused on *P. chlamydospora* isolates (CHICAU *et al.*, 2000; REGO *et al.*, 2000; CRUZ *et al.*, 2005; SANTOS *et al.*, 2006). In the Dão wine region, this fungus is usually isolated from esca symptomatic grapevines (SOFIA *et al.*, 2006); nevertheless, there is a lack of information about phenotypical and molecular variability of such species.

In our study, analysis of phenotypic characters showed that morphological features in culture such as texture or zonation among *P. chlamydospora* isolates were low. This pattern was consistent with previous studies (DUPONT *et al.*, 1998; WHITING *et al.*, 2005; TELLO *et al.*, 2010) in which homogeneity was recorded. However, features like colony color, growing margin or hyphal morphology were found to be variable allowing the recognition of four groups of *P. chlamydospora* isolates. Within the four phenotypic groups recognized, the variation of phenotypic characteristics was found to be independent of *P. chlamydospora* isolates geographical origin or scion/rootstock combination. The sporulation and the daily growth rate at 25°C of *P. chlamydospora* isolates were similar to the obtained by TELLO *et al.* (2010).

ISSR analysis of *P. chlamydospora* isolates revealed a low level of genetic variation among isolates. Similar results were previously obtained by TEGLI *et al.* (2000) and MOSTERT *et al.* (2006).

The lack of diversity established among the studied isolates might be justified, by the short period of time in which the isolates where obtained and from a population with a genetic structure based in asexual reproduction (TEGLI *et al.*, 2000; POTTINGER *et al.*, 2002; MOSTERT *et al.*, 2006). Moreover, ISSR tools did not detect a significant genetic variability. Further research based on an enlarged collection of isolates and in other molecular markers is needed to confirm the low genetic diversity within *P. chlamy-dospora* population in Dão region.

LITERATURE CITED

- BRIDGE *et al.* (1997). VNTR derived oligonucleotides as PCR primers for population studies in filamentous fungi. *Letters in Applied Microbiology* 24, 426–430.
- CENIS (1992). Rapid extraction of fungal DNA for PCR amplification. *Nucleic Acids Research* 20, 2380.
- CHICAU et al. (2000). Phaeoacremonium chlamydosporum and Phaeoacremonium angustius associated with esca and grapevine decline in Vinho Verde grapevines in north-west Portugal. Phytopathologia Mediterranea 39, 80–86.
- CRUZ et al. (2005). Doenças do lenho da videira: Resultados de uma prospecção realizada na subregião de Monção na casta "Alvarinho". In: Resume book, VII Encontro Nacional de Protecção Integrada-A Produção Integrada e a Qualidade e Segurança Alimentar, Ed. IPC, Coimbra, Portugal, 200–208.
- CROUS & GAMS (2000). *Phaeomoniella chlamydospora* gen. et comb. nov., a causal organism of Petri grapevine decline and esca. *Phytopathologia Mediterranea* 39, 112–118.
- DUPONT et al. (1998). Partial ribosomal DNA sequences show an important divergence between Phaeoacremonium species isolated from Vitis vinifera. Mycological Research 102, 631–637.
- FALCÃO (2012). Cadernos do vinho, Dão. Público Comunicação Social S.A. eds., Maia, Portugal, 147 pp.
- FANG & Rose (1997). Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat markers. *Theoretical and Applied Genetics* 95, 408–417.
- GILBERT et al. (1999). Developing an appropriate strategy to assess genetic variability in plant germplasm collections. *Theoretical and Applied Genetics* 98, 1125–1131.
- GONZÁLEZ & TELLO (2011). Genetic variations in Spanish isolates of *Phaeomoniella chlamy-dospora*, the causal etiological agent of Petri disease of grapevine. *Pytopathologia Mediterranea* 50, S191–S203.
- IVV (2012). Instituto da Vinha e do Vinho I.P. (web site). Vinha (online). Regime de Apoio à Reestruturação e Reconversão das Vinhas (online). Available at http://www.ivv.minagricultura.pt/np4/246. Consulted 15th October 2012.
- MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE L'ALIMENTATION, DE LA PÊCHE ET DES AFFAIRES RURALES (MAAPAR) (2004). Observatoire national des maladies du bois de la vigne Année 2004. Note de Service DGAL/SDQPV/N2004-8126 april, the 24th 2004, Paris, France, 4 pp. Available at http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/dgaln20048126z-2.pdf (consulted 11th October 2012).
- MOSTERT et al. (2006). Genetic diversity among isolates of *Phaeomoniella chlamydospora* on grapevines. *Australasian Plant Pathology* 35, 453–460.

- NASCIMENTO et al. (2001). Detection of Cylindrocarpon black-foot pathogens in grapevine by nested PCR. Phytopathologia Mediterranea 40, S357–S361.
- POTTINGER et al. (2002). Low genetic variation detected in New Zealand populations of Phaeomoniella chlamydospora. Phytopathologia Mediterranea 41, 199–211.
- RIDGWAY et al. (2005). Development of an isolatespecific marker for tracking *Phaeomoniella* chlamydospora infections in grapevines. Mycologia 97, 1093–1101.
- RODRIGUEZ & YODER (1991). A family of conserved repetitive DNA elements from the fungal plant pathogen *Glomerella cingulata* (*Colletotrichum lindemuthianum*). *Experimental Mycology* 15, 232–242.
- REGO et al. (2000). Involvement of *Phaeoacremonium* spp. and *Cylindrocarpon destructans* with grapevine decline in Portugal. *Phytopathologia Mediterranea* 39, 7679.
- SANTOS *et al.* (2006). Phenotypic characterisation of *Phaeoacremoium* and *Phaeomoniella* strains isolated from grapevines: enzyme production and virulence of extra-cellular filtrate on grapevine calluses. *Scientia Horticulturae* 107, 123–130.
- SOFIA et al. (2006). Spatial distribution of esca symptomatic plants in Dão vineyards (Centre Portugal) and isolation of associated fungi. Phytopathologia Mediterranea 45, S87–S92.
- TALHINHAS *et al* (2003). AFLP, ISSR and RAPD markers reveal high levels of genetic diversity among *Lupinus* spp. *Plant Breeding* 122, 507–510.
- TEGLI et al. (2000). Genetic variation within Phaeoacremonium aleophilum and Ph. chlamydosporum in Italy. Phytopathologia Mediterranea 39, 125–133.
- TELLO et al. (2010). Analysis of phenotypic and molecular diversity of Phaeomoniella chlamydospora isolates in Spain. Journal of Plant Pathology 92, 195–203.
- TOMAZ et al. (1989). A esca, principal doença do lenho na região dos vinhos do Dão. Vida Rural 1474, 10–16.
- TOMAZ & REGO (1990). Fungos do complexo responsável pelo declínio das videiras em Portugal. Vida Rural 1493, 12–20.
- WHITING et al. (2001). Effect of temperature and water potential on survival and mycelial growth of Phaeomoniella chlamydospora and Phaeoacremonium spp. Plant Disease 85, 195–201.
- WHITING et al. (2005). Phaeomoniella chlamydospora and Phaeoacremonium species distinguished through cultural characters and ribosomal DNA sequence analysis. Mycotaxon 92, 351–360.

"The present article is part of a broader article submitted to Phytopathologia Mediterranea for publication"

AGENTES CAUSAIS DO PÉ NEGRO DA VIDEIRA ASSOCIADOS A RAÍZES DE INFESTANTES DA VINHA

Pedro REIS 1; Helena OLIVEIRA1

RESUMO

O pé negro da videira, causado maioritariamente por fungos do género *Ilyonectria*, origina o declínio e a morte de videiras jovens, por vezes logo após a plantação. Nos casos mais frequentes, a manifestação precoce da doença é devida à utilização de materiais de propagação vegetativa infetados, mas não se deve rejeitar, como hipótese, a existência de outras fontes de inóculo, em particular o solo e eventualmente plantas infestantes. O presente estudo teve como objetivo averiguar causas para o insucesso de uma operação de retancha em três parcelas de vinha, efetuada para colmatar falhas de plantação do ano anterior. A análise laboratorial das plantas doentes revelou incidência e severidade elevadas de *Ilyonectria* spp. nas raízes das videiras, contrastando com valores baixos na base do porta-enxerto e praticamente nulos na região de enxertia. Analisaram-se ainda plantas infestantes assintomáticas, presentes em cada uma das parcelas, verificando-se o isolamento frequente de *Ilyonectria* spp. a partir de raízes de erva-vaqueira (*Calendula arvensis*), grizandra (*Diplotaxis catholica*), labaça-crespa (*Rumex crispus*), malva-bastarda (*Lavatera cretica*) e soagem (*Echium plantagineum*). Estes resultados, ainda que preliminares, indicam que as infestantes podem contribuir para a manutenção de inóculo no solo e apontam para a necessidade de se efetuar uma gestão mais eficiente das infestantes na vinha, ao longo de todo o ano.

Palavras-chave: Vitis vinifera, Ilyonectria spp., fontes de inóculo, infestantes.

1 - INTRODUÇÃO

O pé negro da videira é uma doença que se manifesta na maioria das regiões vitivinícolas do mundo, originando declínio e morte de videiras jovens e afetando igualmente plantas de viveiro. A doença é maioritariamente causada por fungos do género *Ilyonectria*, embora *Campylocarpon* spp., *Cylindrocladiella* spp. e "*Cylindrocarpon*" pauciseptatum possam também estar envolvidos (HALLEEN et al., 2006a; SCHROERS et al., 2008; CHAVERRI et al., 2011; AGUSTÍ-BRISACH et al., 2012; CABRAL et al., 2012a;

_

¹ CEER, Centro de Engenharia de Biossistemas, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Tapada da Ajuda 1349-017 Lisboa, Portugal, heloliveira@isa.utl.pt

2012b). Todavia, a distribuição geográfica destes últimos fungos é incomparavelmente mais restrita do que a de *Ilyonectria* spp., em videira ou noutros hospedeiros (AGUSTÍ-BRISACH, 2013).

Os sintomas associados ao pé negro, em plantas de viveiro ou em videiras recentemente plantadas, incluem redução na biomassa de raízes, necroses radiculares, descoloração negra e inclusões de goma nos vasos xilémicos e estrias no tecido vascular, principalmente na base do porta-enxerto (REGO et al., 2000; HALLEEN et al., 2006a; AGUSTÍ-BRISACHI, 2013). Externamente, as videiras revelam vigor e crescimento reduzidos, entrenós curtos, folhagem raquítica e atempamento irregular da madeira (REGO, 2004; HALLEEN et al., 2006a). Muitas não chegam sequer a abrolhar, morrendo rapidamente (GUBLER et al., 2004). Contudo, os sintomas referidos podem confundir-se com os originados pela doença de Petri, causada por *Phaeomoniella chlamydospora* e *Phaeoacremonium* spp. (REGO et al., 2000; AGUSTÍ-BRISACHI, 2013).

A ocorrência de pé negro em vinhas recentemente plantadas é maioritariamente atribuída ao uso de enxertos-prontos (ou bacelos) infetados. Todavia, são conhecidas outras fontes de inóculo que podem estar na origem das infeções (AGUSTÍ-BRISACHI et al., 2011; CARDOSO et al., 2013a; 2013b). Os fungos do género Ilvonectria e "C." pauciseptatum habitam o solo, onde permanecem sob a forma de estruturas de resistência, os clamidósporos (CHAVERRI et al., 2011). A longevidade destas estruturas é desconhecida mas, à semelhança de outros fungos, é amplamente aceite que a sobrevivência pode ser assegurada por períodos de tempo prolongados, mesmo na ausência de plantas hospedeiras. Muitas plantas infestantes favorecem a sobrevivência de fungos fitopatogénicos do solo, como é o caso de Verticillium spp. na oliveira (THANASSOULOPOULOS et al., 1981), ou de Fusarium spp. em diferentes culturas (FASSIHIANI, 2000; POSTIC et al., 2012), contribuindo para o aumento da concentração de inóculo. Muitas dessas infestantes não manifestam sintomas, mas constituem reservatórios de inóculo, a partir dos quais se poderão desencadear infeções nas plantas hospedeiras. Recentemente, em Espanha, fungos envolvidos no declínio de videiras jovens, incluindo os do complexo I. macrodidyma, foram isolados de inúmeras infestantes da vinha, tendo-se provado serem patogénicos para a videira (AGUSTÍ-BRISACH et al., 2011).

O presente estudo teve como objetivo apurar possíveis causas para o declínio e morte

de videiras jovens, em três parcelas de vinha, na sequência de uma operação de retancha

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Caracterização das parcelas e amostragem

O estudo incidiu em três parcelas de vinha regada, duas da casta Arinto x 1103 P e uma da casta Antão Vaz x 1103 P, instaladas no concelho de Montemor-o-Novo, Alentejo, Portugal. O histórico das parcelas não incluía vinha, nem qualquer outra cultura perene, desde há oito anos. As parcelas, plantadas em 2010, tinham experimentado insucesso de plantação e foram alvo de retancha em 2012. No conjunto das duas parcelas de Arinto, o insucesso da retancha foi de aproximadamente 50%, enquanto na parcela Antão Vaz rondou os 70%.

Para efeitos de análise laboratorial, em cada uma das parcelas, colheram-se de forma aleatória 10 videiras, num total de 30, com o cuidado de proceder à recolha de exemplares completos, incluindo o sistema radicular. Rejeitaram-se plantas mortas e as que denotavam um estado adiantado de decomposição (saprófitas visíveis a olho nu). As plantas colhidas foram devidamente etiquetadas e transportadas sem demora para o laboratório.

Posteriormente, foram colhidas algumas plantas infestantes, representativas do elenco florístico de cada uma das parcelas, para eventual despiste da presença de fungos potencialmente patogénicos para a videira.

2.2 - Isolamento e identificação dos isolados

Após lavagem em água corrente, cada uma das videiras foi analisada ao nível de: 1) raízes, 2) cerca de 3-4 cm acima da base do porta-enxerto e 3) região de enxertia. As plantas foram seccionadas longitudinalmente (ou transversalmente) para observação dos sintomas internos, que foram registados fotograficamente (os mais significativos). De cada videira e de cada uma das regiões (raiz, base, enxertia), foram retirados seis fragmentos de madeira que, após desinfeção superficial numa solução de hipoclorito de sódio a 7%, seguida de lavagem em água destilada esterilizada e secagem em papel de filtro igualmente esterilizado, foram transferidos para meio de cultura adequado (gelose

de batata dextrosada, PDA, Difco), suplementado com cloranfenicol (250 mg L-1), adiante referido PDAC, à razão de seis fragmentos por placa de Petri. No total da consulta, foram analisados 540 fragmentos de lenho da videira (30 videiras X 3 regiões X 6 fragmentos). Após inoculação, as placas de PDAC foram mantidas em estufa de incubação regulada à temperatura de 20°C, durante cerca de 3 semanas, sendo inspecionadas regularmente para identificação preliminar dos fungos presentes. Os mais relevantes foram repicados e purificados, pelo método do esporo único, em PDA, com vista à confirmação da sua identidade.

As raízes das infestantes foram lavadas abundantemente em água corrente, tendo-se de seguida extraído de cada planta quatro raízes, que foram colocadas em tubos Falcon contendo cerca de 5 ml de água destilada esterilizada e uma gota de Tween 80 (Merck, Alemanha). Os tubos foram agitados em vortex e, posteriormente, mantidos em repouso durante 12 horas, para libertação das partículas de solo da superfície das raízes. Findo este período, cortaram-se seis fragmentos de cada raiz, que sofreram tratamento idêntico ao anteriormente descrito para os fragmentos de videira, exceto no que se refere à desinfeção, em que foi usada uma solução de hipoclorito de sódio a 1%. Decorrido o período de incubação, os fungos semelhantes a *Ilyonectria* spp. foram repicados e purificados, tal como descrito anteriormente.

As culturas monospóricas de *Ilyonectria* spp. foram posteriormente analisadas por nested-PCR, com recurso aos iniciadores ITS1F/ITS4, na primeira reação de amplificação e Dest1/Dest4 (HAMELIN *et al.*,1996), na segunda reação, tal como descrito por NASCIMENTO *et al.* (2001). Foram ainda analisadas por multiplex nested-PCR, em que na segunda reação de amplificação se utilizaram três pares de iniciadores, Lir1/Lir2, Mac1/MaPa2 e Pau1/MaPa2 (ALANIZ *et al.*, 2009), para amplificar respetivamente *I. liriodendri*, fungos do complexo *I. macrodidyma* e "C." pauciseptatum. Em linhas gerais, o procedimento seguido foi idêntico ao descrito por CARDOSO *et al.* (2013a).

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os sintomas observados, representativos da maioria das videiras doentes, incluíam ausência de rebentação ou vegetação raquítica, raízes pouco desenvolvidas e com lesões necróticas. Em corte transversal, as videiras evidenciavam necrose na base do portaenxerto e /ou estrias castanho a negras, visíveis em corte longitudinal (Fig. 1).

Os resultados dos isolamentos microbiológicos efetuados permitiram identificar como agentes patogénicos predominantes fungos do género *Ilyonectria*. Em termos de incidência (percentagem de plantas infetadas), verificou-se que, nas parcelas de Arinto, 70% das plantas eram portadoras de fungos *Ilyonectria* spp., enquanto na parcela Antão Vaz a incidência era de 100%. Estes fungos surgiram ainda na base do porta-enxerto, mas foram raros ou ausentes na região de enxertia (Quadro 1). Para além dos fungos *Ilyonectria* spp., detetou-se ainda a presença de *Pa. chlamydospora*, agente causal da doença de Petri (Fig. 1c), em 30% das videiras da parcela Antão Vaz, embora a severidade tenha sido muito reduzida (dados não mostrados). Também fungos Botryosphaeriaceae surgiram mais consistentemente associados à região de enxertia desta parcela, comparativamente às parcelas da casta Arinto. De todas as videiras foram ainda isolados fungos do género *Penicillium* e outros saprófitas, frequentes em material vegetal já em fase de degradação.

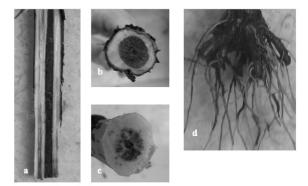


Fig. 1 - Sintomas evidenciados por videiras jovens afetadas por declínio: a) estrias castanho a negras na base do porta-enxerto (corte longitudinal); b) necrose em torno da medula; c) pontuações negras, confluentes (base do porta-enxerto); d) raízes com sintomas de necrose.

Quadro 1 - Incidência e severidade de fungos do género *Ilyonectria* em videiras das castas Arinto (parcelas 1 e 2) e Antão Vaz, enxertadas em 1103P

Casta/Porta enxerto	Região da videira	Incidência (%)1	Severidade (%)2
Arinto 1 x 1103P	Raiz	70	27
	Base	30	8
	Enxertia	10	2
Arinto 2 x 1103P (2)	Raiz	70	32
	Base	40	20
	Enxertia	0	0
Antão Vaz x 1103P	Raiz	100	50
	Base	20	7
	Enxertia	0	0

¹ Percentagem de videiras infetadas por fungos Ilyonectria spp.;² Percentagem média de infeção, por Ilyonectria spp., em cada planta.

A elevada incidência e severidade de fungos *Ilyonectria* spp., agentes causais do pé negro da videira, ao nível das raízes e a diminuição acentuada da incidência destes fungos na base do porta-enxerto, não permitiu estabelecer uma relação direta entre o insucesso da retancha e os materiais vegetais usados na plantação, sobretudo porque os fungos foram maioritariamente isolados de raízes jovens (emitidas após a plantação). Esta constatação levou-nos a colocar a hipótese de existirem outras fontes de inóculo presentes na vinha, as quais, em adição ao material vegetal infetado, pudessem ter contribuído para o agravamento do declínio e morte das videiras replantadas.

Na sequência dos resultados obtidos, fomos averiguar a hipótese das plantas infestantes estarem a contribuir como fontes de inóculo para a vinha, tendo presente que, em Espanha, se provou que a flora infestante das vinhas podia albergar isolados patogénicos de *Pa. chlamydospora* e, sobretudo, de *I. macrodidyma* (AGUSTÍ-BRISACH *et al.*, 2011). Os resultados apurados, quer por isolamento microbiológico quer por métodos moleculares, evidenciaram a presença consistente de fungos do complexo *I. macrodidyma* em raízes de malva-bastarda, soagem, erva-vaqueira e grizandra (Quadro 2).

Quadro 2 – Plantas infestantes de três parcelas de vinha das castas Arinto (1 e 2) e Antão Vaz, enxertadas em 1103P, a partir das quais se obtiveram fungos do género *Ilyonectria*, por isolamento microbiológico e por métodos moleculares (nested-PCR) emultiplex nested-PCR)

Parcela	Planta infestante/raíz	Código do isolado	Isolamento	Nested- PCR	Multiplex nested-PCR
	Lavatera cretica (malva-bastarda)	A1P2-1	+	+	Complexo I. macrodydima
		A1P2-2	+	+	Complexo I. macrodydima
	Echium plantagineum (soagem)	A2P2-1	+	+	Complexo I. macrodydima
		A2P2-2	+	+	Complexo I. macrodydima
		A2P2-3	+	+	Não se obtiveram resultados positivos
(e	Calendula arvensis (erva-vaqueira)	AVP5-1	+	+	Complexo I. macrodydima
		AVP5-2	+	+	Não se obtiveram resultados positivos
	Diplotaxis chatolica (grizandra)	AVP4-1	+	+	Complexo I. macrodydima

Foram isolados ainda dois outros fungos semelhantes a *Ilyonectria* spp., para os quais não foi possível a identificação por multiplex nested-PCR, o que indica não pertencerem a *I. liriodendri*, ao complexo *I. macrodidyma* ou a "*C." pauciseptatum*. Todavia, apresentam características morfológicas e culturais compatíveis com as do género *Ilyonectria* (CHAVERRI *et al.*, 2011), para além de terem sido detetados com recurso aos iniciadores Dest1/Dest4, que amplificam fungos deste mesmo género. A partir das plantas infestantes, não se obtiveram isolados de *Pa. chlamydospora* nem de quaisquer outros fungos patogénicos da videira.

As plantas infestantes analisadas não apresentavam sintomas evidentes de necrose radicular, nem necrose do sistema vascular, admitindo-se que sejam portadoras assintomáticas de *Ilyonectria* spp. Ainda assim, é possível que raízes eventualmente portadoras de necroses, e por conseguinte mais frágeis, tenham sido destacadas da planta, aquando do arranque. Futuras prospeções deverão ter este aspeto em consideração, uma vez que AGUSTÍ-BRISACH *et al.* (2011) relatam ligeira descoloração e necrose radicular em plantas infestantes.

Os resultados obtidos não permitem garantir que os fungos *Ilyonectria*, isolados das plantas infestantes, são patogénicos para a videira, mas os dados apontam nesse sentido, pois em Espanha essa patogenicidade revelou-se muito consistente para fungos do complexo *I. macrodidyma* (AGUSTÍ-BRISACH *et al.*, 2011). Também CABRAL *et al.* (2012c) verificaram que isolados de *Ilyonectria* spp., obtidos de inúmeros hospedeiros, eram tão ou mais virulentos para a videira do que isolados obtidos de videira.

À luz dos conhecimentos atuais, existem inúmeras espécies do género *Ilyonectria* capazes de atacar a videira (HALLEEN *et al.*, 2006b; CABRAL *et al.* 2012a; CABRAL *et al.* 2012b). A metodologia usada no presente estudo apenas permite concluir que os isolados obtidos de infestantes pertencem ao complexo *I. macrodidyma*, pelo que os estudos irão prosseguir para identificar as espécies presentes no complexo e sobretudo para averiguar a respetiva patogenicidade em videira. Até que esses resultados estejam apurados, recomenda-se, como medida preventiva, a adequada gestão da flora infestante da vinha, durante todo o ano, sem descurar o período de repouso vegetativo da videira.

AGRADECIMENTOS

Às colegas Teresa Nascimento e Teresa Vasconcelos (ISA/UTL) pelo apoio prestado; à Empresa vitivinícola e aos técnicos da mesma, por nos terem permitido a divulgação dos dados; à Fundação para a Ciência e a Tecnologia, pelo financiamento concedido (PTDC/AGR-AAM/099324/2008).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUSTÍ-BRISACH *et al.* (2011). Evaluation of vineyard weeds as potential hosts of black foot and Petri disease pathogens. *Plant Dis.* 95, 803–810.
- AGUSTÍ-BRISACHI (2013). Studies on the epidemiology of black-foot disease of grapevine in Spain. Doctoral Thesis, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, Spain, 180 pp.
- CABRAL *et al.* (2012a). Multi-gene analysis and morphology reveal novel *Ilyonectria* species associated with black foot disease of grapevines. *Fungal Biol.* 116, 62–80.
- CABRAL et al. (2012b). Cylindrocarpon root rot: multi-gene analysis reveals novel species within the *Ilyonectria radicicola* species-complex. *Mycol. Prog.* 11, 655–682.
- CABRAL *et al.* (2012c). Virulence and cross-infection potential of *Ilyonectria* spp. to grapevine. *Phytopathol. Mediterr.* 51, 340–354.
- CARDOSO *et al.* (2013a). Unveiling inoculum sources of black-foot pathogens in a commercial grapevine nursery. *Phytopathol. Mediterr.* (accepted).
- CARDOSO *et al.* (2013b). Pé negro da videira: fontes de inóculo em viveiro comercial. In *Actas 9º Simpósio Vitivinicultura do Alentejo* (presente volume).
- CENIS (1992). Rapid extraction of fungal DNA for PCR amplification. Nucleic Acids Res. 20, 2380.

- CHAVERRI et al. (2011). Delimitation of Neonectria and Cylindrocarpon (Nectriaceae, Hypocreales, Ascomycota) and related genera with Cylindrocarpon-like anamorphs. Stud. Mycol. 68, 57–78.
- FASSIHIANI (2000). Symptomless carriers of the causal agent of tomato wilt pathogen. *J. Agr. Sci. Tech.* 2, 27–32.
- GUBLER *et al.* (2004). Root disease of grapevines in California and their control. *Australas. Plant Path.* 33, 157–165.
- HALLEEN et al. (2006a). A review of black foot disease of grapevine. Phytopathol. Mediterr. 45S, 55–67.
- HALLEEN et al. (2006b). HALLEEN et al. (2006b). Neonectria liriodendri sp. nov., the main causal agent of black foot disease of grapevine. Stud. Mycol. 55, 227–234.
- NASCIMENTO *et al.* (2001). Detection of *Cylindrocarpon* black-foot pathogens in grapevine by nested PCR. *Phytopathol. Mediterr.* 40S, 357-361.
- POSTIC *et al.* (2012). Diversity of *Fusarium* species isolated from weeds and plant debris in Croatia. *J. Phytopathol.* 160, 76–81.
- REGO et al. (2000). Involvement of *Phaeoacremonium* spp. and *Cylindrocarpon destructans* with grapevine decline in Portugal. *Phytopathol. Mediterr.* 39, 76–79.
- REGO (2004). Estudo e caracterização de fungos do género Cylindrocarpon (Neonectria) responsáveis pelo pé negro da videira. Dissertação apresentada ao Lab. Pat. Veg. Veríss. Almeida para acesso à categoria de Investigador Auxiliar, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, 228 pp.
- SCHROERS *et al.* (2008). *Cylindrocarpon pauciseptatum* sp. nov., with notes on *Cylindrocarpon* species with wide, predominantly 3-septate macroconidia. *Mycol. Res.* 112, 82–92.
- THANASSOULOPOULOS *et al.* (1981). Weed hosts as inoculum source of *Verticillium* in olive orchards. *Phytopath. Mediterr.* 20, 164–168.
- WHITELAW-WECKERT (2010). Interaction between *Cylindrocarpon* and glyphosate in young vine decline. *Phytopath. Mediterr*.49, 117–118.

DOURO E PENCOL: UTILIZAÇÃO SEGURA DO PENCONAZOL PARA VINHOS EXPORTADOS FORA DA UE

António Manuel DUARTE1; Vincent ABELA2

RESUMO

Em março de 2012, o TTB dos EUA bloqueou um lote de vinhos italianos por possuir resíduos de penconazol de 0,004 mg/kg. A divulgação desta recusa levantou suspeitas sobre a utilização segura do penconazol na protecção da vinha em produções destinadas à exportação, nomeadamente para os EUA. Este episódio não passou dum pequeno incidente tendo em conta a reduzida quantidade envolvida, os resíduos irrisórios detectados e, sobretudo, porque o mesmo ficou resolvido passadas cerca de 2 semanas e o lote de vinho contestado foi comercializado sem entrave nos EUA. Também não foi relatado mais nenhum incidente similar. Relativamente a vinhos destinados ao mercado americano, os ensaios de resíduos efectuados pelo Grupo Sapec em 2012 permitem concluir que, quando aplicado de acordo com as boas práticas agrícolas (máximo de 3 aplicações; dose: 35 g s.a./ha; 14 dias intervalo entre aplicações) e quando a última aplicação é efectuada até 45 dias antes da colheita, não existem riscos de detetar resíduos de penconazol no vinho produzido. Comprovase, assim, que nestas condições é perfeitamente seguro a utilização do Douro (Sapec Agro) e Pencol (Selectis) nas vinhas portuguesas, mesmo nos casos em que as produções se destinem ao mercado americano.

Palavras-chave: penconazol, resíduos, vinho, exportação, USA

1 – INTRODUCÃO

O penconazol é um fungicida sistémico da família dos triazois com acção preventiva e curativa utilizado para o controlo de oídio em diversas culturas. É comercializado em Portugal pelo Grupo Sapec com as marcas Douro e Pencol (SAPECAGRO, 2013; SELECTIS, 2013).

¹ SAPEC GROUP AGROBUSINESS, Av. do Rio Tejo, Herdade das Praias, 2901-877 Setúbal – Portugal. aduarte@agro.sapec.pt

² SAPEC GROUP AGROBUSINESS, Av. do Rio Tejo, Herdade das Praias, 2901-877 Setúbal – Portugal. vabela@agro.sapec.pt

Descoberto em 1983, é ainda hoje o fungicida sistémico de referência na União Europeia para o controlo daquela doença graças à sua excelente actividade a dose muito baixa de aplicação (35 g s.a/ha). Foi incluído na lista positiva comunitária pela Directiva 2009/34/EC em 01/01/2010 (EUR-LEX, 2013a).

Existe um limite máximo de resíduos (LMR) para o penconazol em uvas, estabelecido a nível da UE e em outros países fora da UE. Este LMR (fixado em 0,2 mg/kg na UE pelo Regulamento (EC) Nº 149/2008, e no Codex) garante que, sempre que o produto é utilizado de acordo com as recomendações do rótulo, o vinho produzido não terá resíduos acima deste nível e, portanto, pode ser livremente comercializado no seio da UE e nos países onde um LMR se encontra definido (EUR-LEX, 2013b).

No entanto, nos Estados Unidos da América, o penconazol não está registado para utilização em vinha, e nunca foi estabelecido um LMR para esta substância activa.

Utilizado há mais de 25 anos em vinhas europeias, inclusivamente para elaboração de vinhos destinados a exportação para os EUA, o Grupo Sapec nunca tinha tido conhecimento de importação de vinhos recusada pelos EUA devido à existência de resíduos de penconazol. É inclusivamente do perfeito conhecimento de quem habitualmente exporta para este país que a FDA (Food and Drug Administration) aceita resíduos em vinho abaixo de 0,01 mg/kg para qualquer substância activa que não tenha LMR atribuído, sem apresentar contestação.

Todavia, em março de 2012, o TTB (Tax and Trade Bureau – Organismo responsável pelo controlo de importações de bebidas alcoólicas) alterou esta posição bloqueando um lote de vinhos provenientes de Itália por possuir resíduos de penconazol de 0,004 mg/kg. A divulgação desta recusa de importação no meio vitícola português levantou alguma suspeita sobre a utilização segura deste produto para vinhos destinados à exportação para os EUA. A decisão algo estranha do TTB resumiu-se na contestação dum único lote de poucas centenas de garrafas de vinho proveniente do Norte da Itália, havendo suspeitas que a aplicação de penconazol, nas vinhas de onde provinham as uvas, não seguiu as recomendações do rótulo. E não passou dum pequeno incidente pois, passadas cerca de 2 semanas, esta contestação tinha sido retirada e esse mesmo lote de vinho foi livremente comercializado nos EUA. Não foi relatado mais nenhum incidente similar. Face às dúvidas levantadas, o Grupo Sapec decidiu implementar em Portugal durante 2012 um programa adicional de ensaios de resíduos em zonas vitícolas representativas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram efectuados oito ensaios de resíduos, seguindo as boas práticas experimentais e de laboratório (GEP e GLP). O quadro 1 resume o protocolo seguido.

Quadro 1 - Protocolo seguido em oito ensaios de resíduos efectuados em 2012

Regiões: Douro (4) e Alentejo (4)

Dose: 35 g s.a./ha (dose homologada em Portugal)

Número de aplicações: 2 ou 3 Intervalo entre aplicações: 7 dias

Última aplicação: estado fecho dos cachos

Amostras: colhidas 0, 17, 30, 45 e 60 dias após a última aplicação

O intervalo entre aplicações utilizado (7 dias) foi inferior ao recomendado nas boas práticas agrícolas (14 dias) para permitir uma avaliação pelo pior cenário ("worst case"). Relativamente às análises de resíduos, foi utilizado um limite de deteção particularmente baixo (0,003 mg/kg) igual ao conseguido pelo método do TTB (TTB, 2013).

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 1 representa a curva de degradação média obtida nos ensaios realizados. Os traços verticais ilustram o desvio padrão associado às médias. A linha tracejada superior representa o LMR fixado na UE e no Codex. A linha tracejada inferior situa o nível de resíduos em uvas correspondente ao limite de deteção em vinho (0,003 mg/kg) considerando um Factor de Transferência de resíduos das uvas para o vinho de cerca de 12,5% (o Factor de Transferência indica a quantidade de resíduos presentes nas uvas que é transferida para o vinho). No caso concreto do penconazol, e com um Factor de Transferência de 12,5%, se tivermos uvas com 0,02 mg/kg o vinho produzido a partir dessas uvas vai ter um nível de resíduos inferior a 0,0025 mg/kg). Abaixo da linha tracejada inferior já não se detectam resíduos de penconazol nos vinhos elaborados.

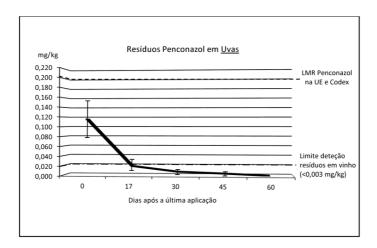


Figura 1 - Resíduos penconazol em uvas

Os resultados obtidos indicam que, no próprio dia da aplicação e mesmo considerando a variablidade dos resultados obtidos, os resíduos analisados nas <u>uvas</u> são sempre inferiores ao LMR (0,2 mg/kg na UE) (Figura 1).

Não foram detectados resíduos em <u>uvas</u> nas amostras colhidas 60 dias após a última aplicação (resíduos <0,003 mg/kg = limite de deteção). Nas amostras colhidas 45 dias após a última aplicação, os resíduos variaram entre não detetáveis e 0,006 mg/kg.

Em ambas as datas de amostragem, os resíduos previsíveis no <u>vinho</u> são sempre inferiores ao limite de deteção: cerca de 0,0008 mg/kg no intervalo de 45 dias e 0,0006 mg/kg no intervalo de 60 dias.

Relativamente ao número de aplicações, não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre 2 ou 3 aplicações (dados não mostrados).

Assim, conclui-se que aplicações efectuadas até 45 dias antes da colheita não conduzem a resíduos detectáveis nos vinhos elaborados. Esta fase corresponde aproximadamente ao estado fecho dos cachos/início do pintor, a partir do qual não são recomendadas aplicações de triazois.

4 - CONCLUSÕES

O Grupo Sapec considera o penconazol como um fungicida chave para a protecção da vinha contra o oídio e, por este facto, está empenhado na sua utilização segura para vinhos comercializados na UE ou exportados para fora dela.

A singular recusa de importação por parte do TTB em 2012, rapidamente resolvida e que não se repetiu, levantou algumas dúvidas relativamente à utilização segura do penconazol para vinhos destinados à exportação, nomeadamente para os EUA.

A existência de um limite máximo de resíduos na UE (0,2 mg/kg) e noutros países fora da UE garante a livre circulação de vinhos que respeitam este LMR.

Relativamente a vinhos destinados ao mercado americano, os ensaios de resíduos efectuados pelo Grupo Sapec em 2012 permitem concluir que, quando aplicado de acordo com as boas práticas agrícolas (máximo de 3 aplicações; dose: 35 g s.a./ha; 14 dias intervalo entre aplicações) e quando a última aplicação é efectuada até 45 dias antes da colheita, não existem riscos de detetar resíduos de penconazol no vinho produzido.

Comprova-se, assim, que nestas condições é perfeitamente seguro a utilização do Douro (Sapec Agro) e Pencol (Selectis) nas vinhas portuguesas, mesmo nos casos em que as produções se destinem ao mercado americano.

Continuam, portanto, os agricultores portugueses a poder utilizar aqueles que são autênticos fungicidas de referência na protecção do oídio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- EUR-LEX (2013a). Directiva 2009/34/CE do parlamento europeu e do conselho. http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:106:0007:0024:PT:PDF (acedido em 8 de Janeiro de 2013)
- EUR-LEX (2013b). Regulamento (CE) n.o 149/2008 da Comissão de 29 de Janeiro de 2008 http://eur-

lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:058:0001:0398:PT:PDF (acedido em 8 de Janeiro de 2013)

SAPECAGRO (2013). Douro.

http://www.sapecagro.pt/internet/produtos/produto.asp?id_produto=153 (acedido em 4 de Janeiro de 2013)

- SELECTIS (2013). Pencol. http://www.selectis.pt/fungicidasx84.asp?id_produtos=84 (acedido em 4 de Janeiro de 2013)
- TTB (2013) Pesticide GC/MSD/SIM Method. http://www.ttb.gov/ssd/pdf/tm201.pdf (acedido em 10 de Janeiro de 2013)

ESTUDO DO PERFIL SENSORIAL DE VINHOS DO PORTO BRANCO, RUBY E TAWNY PRESENTES NO MERCADO PORTUGUÊS

Bebiana MONTEIRO¹; Elisete CORREIA² e Alice VILELA^{1*}

RESUMO

O Vinho do Porto é um vinho tipicamente Português, produzido na Região Demarcada do Douro. Requer especial atenção, quer pela sua história quer pela internacionalização do mercado, contribuindo consideravelmente para a economia local. A análise sensorial é considerada uma das ferramentas mais importante na investigação e desenvolvimento de novos produtos e no controlo de qualidade. A aplicação desta técnica na indústria do vinho do Porto tem como função melhorar o conhecimento das preferências do consumidor e a consequente produção dos diferentes estilos e categorias especiais do vinho do Porto que satisfaçam as expectativas do públicoalvo. Assim, foi objetivo deste trabalho a identificação, seleção de descritores e o estudo do perfil sensorial de diferentes marcas e estilos de Vinhos do Porto. À análise dos dados aplicaramse técnicas estatísticas não paramétricas como a CATPCA, que permitiu a identificação de grupos de vinhos de uma forma intuitiva, bem como a identificação dos descritores que possibilitam a discriminação entre os grupos e cada uma das marcas comerciais de vinhos do Porto entre si. Das dezanove marcas estudadas, conclui-se que dentro de cada categoria, várias marcas têm atributos comuns e outras são caracterizadas por descritores que as diferenciam significativamente das restantes.

Palavras chave – Vinho do Porto, análise sensorial, Análise Descritiva Quantitativa, descritores de vinhos do Porto, técnicas estatísticas não paramétricas, CATPCA.

1 - INTRODUCÃO

A Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), desenvolvida por STONE e SIDEL (1992), é uma metodologia habitualmente usada para identificar e quantificar os atributos sensoriais dos alimentos, utilizando um painel de provadores treinados. Estes autores sugerem

¹ Instituto de Biotecnologia e Bioengenharia, Centro de Genómica e Biotecnologia (IBB/CGB – UTAD), 5001 801 Vila Real, Portugal.

² CM-UTAD e Departamento de Matemática, UTAD, 5001 801 Vila Real, Portugal.

^{*}avimoura@utad.pt

quatro etapas para a realização da ADQ: recrutamento e pré-seleção de candidatos a provadores, levantamento e descrição dos atributos, treino e seleção final dos provadores, avaliação dos produtos.

A ADQ tem como objetivo caracterizar um determinado produto com a minimização dos descritores que permitam dar o máximo de informação sobre as propriedades sensoriais do produto a analisar, medir a intensidade da sensação percebida para cada um dos descritores escolhidos e construir, com o conjunto dos descritores quantificados, o perfil do produto (BARTHELEMY, 1990). Na obtenção dos descritores são indicados vários métodos: método rede, associação controlada, lista pré-estabelecida e escolha livre. Neste último método, o provador recebe várias amostras para indicar os termos que considera mais adequados para descrevê-las e a lista é elaborada, de acordo com BARTHELEMY (1990), seguindo as várias fases: pesquisa do número máximo de descritores; triagem qualitativa dos termos hedónico e dos termos não pertinentes; triagem quantitativa com base na frequência de citação do descritor; e segunda triagem quantitativa com base em técnicas de análise multidimensional de dados.

A linguagem desenvolvida para definir os termos descritivos do produto é da responsabilidade de um provador ou do painel de provadores. Depois de elaborada a lista de termos reduzida, o painel de provadores tem de ser treinado com a ficha selecionada, para que os descritores sejam percebidos por todos os provadores. A função do moderador é de coordenar e auxiliar com materiais de referência, com o objetivo de padronizar as perceções, sem interferir para não influenciar resultados (STONE e SIDEL, 1992). A ADO combinada com análise estatística univariada ou multivariada tem sido usada para descrever diferentes vinhos, como os vinhos brancos do Brasil (BARNABÉ et al. 2007; BEHRENS e SILVA, 2000) e Penedés (NOBLE et al. 1995); vinhos tintos da Rioja (ETAIO et al. 2008), Bordeús (NOBLE et al. 1984), Tacoronte-Acentejo (GON-ZALEZ et al. 2002) e Grécia (KOUSSISSI et al. 2002); ice-wines do Canadá (CLIFF e DEVER, 1996); bem como para descrever castas como Cabernet Sauvignon (HEY-MANN e NOBLE, 1987), Pinot Noir e Chardonnay (GUINARD e CLIFF, 1987), Zinfandel (NOBLE e SHANNON, 1987), Riesling (DOUGLAS et al. 2001) e Touriga Nacional (FALQUÉ et al. 2004). No vinho do Porto esta metodologia foi utilizada por CRISTOVAM et al. (2000) para os diferenciar pela aparência. Foi objetivo deste trabalho a identificação, seleção de descritores e o estudo do perfil sensorial de diferentes marcas e estilos de Vinhos do Porto.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Laboratório de análise sensorial

As provas foram realizadas num laboratório de análise sensorial que se encontra de acordo com os requisitos normativos ISO 8589 (2007), NP 4258 (1993), permitindo ao painel de provadores um ambiente confortável e *standard*, condições essenciais à repetibilidade e reprodutibilidade dos resultados. Cada provador tinha acesso a copos de prova ISO 3591 (1977), cuspideiras, guardanapos, água mineral (marca LUSO) e bolachas de água-e-sal para diminuir a sensação de adstringência entre vinhos.

2.2 - Perfil sensorial de vinhos do Porto

Na determinação do perfil sensorial de vinhos do Porto Branco, Tawny e Ruby correntes foram usados um total de 19 vinhos do Porto de marcas comerciais adquiridas no mercado nacional (Quadro 1). As fichas de prova foram elaboradas após seleção dos descritores apropriados para cada gama de vinhos utilizando dois métodos: lista pré-estabelecida desenvolvida pelo IVDP, IP para a categoria Branco; e escolha livre para as restantes categorias (Ruby e Tawny) (dados em publicação). O perfil sensorial para cada categoria de vinho do Porto foi realizado pelos provadores em dias diferentes, em triplicado, e com diferentes códigos das amostras. As amostras foram servidas nos copos de prova normalizados (ISO 3591, 1977), codificados com três dígitos aleatórios, contendo aproximadamente 30 ml de vinho do Porto e coberto com caixas de Petri. Para as referências padrão usaram-se os mesmos copos, cobertos com caixas, e a mesma quantidade líquida, quando aplicável.

Quadro 1. Vinhos utilizados na determinação do perfil sensorial de vinhos do Porto.

Categoria	Marca	Produtor
Branco	Burmester	Sogevinus - Fine Wines, S.A.
	Croft	Quinta e Vineyard Bottlers -Vinhos S.A.
	Cruz	Gran Cruz -Soc. Com. de Vinhos Lda
	Dalva	C da Silva (Vinhos) S.A.
	Offley	Sogrape Vinhos S.A.
	Quinta do Castelinho	Castelinho Vinhos S.A.
	St. Bart	Companhia da União dos Vinhos
	Armilar	C da Silva (Vinhos) S.A.
	Burmester	Sogevinus - Fine Wines, S.A.
Destant	Calvares	Companhia da União dos Vinhos
Ruby	Croft	Quinta e Vineyard Bottlers -Vinhos S.A.
	Cruz	Gran Cruz -Soc. Com. de Vinhos Lda
	Offley	Sogrape Vinhos S.A.
Tawny	Auchan	Symington Family States
	Cálem	Sogevinus - Fine Wines, S.A.
	Cruz	Gran Cruz -Soc. Com. de Vinhos Lda
	Dalva	C da Silva (Vinhos) S.A.
	Ferreira	Sogrape Vinhos S.A.
	Santelmo	Companhia da União dos Vinhos

2.3 - Análise estatística

Sendo as variáveis em estudo de natureza qualitativa (medidas numa escala ordinal de 1 a 5), os métodos paramétricos não são adequados. Assim, optou-se pela utilização de métodos não paramétricos para a análise estatística dos resultados, como a CATPCA, Todas as análises foram efetuadas com o *software* IBM SPSS Statistics 20 e Microsoft Office Excel 2007.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 - Caracterização do perfil sensorial dos vinhos por testes estatísticos não paramétricos

Devido à natureza das variáveis (variáveis ordinais) envolvidas no estudo para a caracterização sensorial dos vinhos do porto recorreu-se à técnica não paramétrica análise em componentes principais categórica (CATPCA), processo estatístico de redução e transformação de dados. A CATPCA quantifica as variáveis categóricas utilizando o *optimal scaling* atribuindo quantificações numéricas às categorias de cada uma das variáveis qualitativas, possibilitando posteriormente uma análise das componentes principais para

as variáveis assim transformadas (MEULMAN, 1992). Para a implementação da CATPCA foram especificadas inicialmente 5 dimensões, e com base na percentagem de variância total optou-se por se selecionar duas componentes por serem capazes de explicar mais de 80% os dados originais (Figura 1A, B e C).

As marcas de vinhos do Porto (Quadro 1) foram codificadas da seguinte forma: BXnn, em que B=Brand (Marca Comercial), X= Iniciais da categoria de Vinho do Porto (W=White (Branco), R = Ruby e T= Tawny), e nn= número de controlo de receção (aleatória) de Vinho do Porto.

A partir das sete marcas de vinho do Porto Branco, obtivemos a Figura 1A que ilustra o posicionamento de cada marca de vinho do Porto (Δ) no mapa bidimensional das duas componentes retidas, e a sua posição relativa às variáveis originais (descritores de vinhos do Porto). Outra aplicação do CATPCA é a potencial identificação de grupos de indivíduos de uma forma intuitiva (em oposição à descrição formal da *Análise de Clusters*), bem como a identificação de variáveis que permitem a discriminação entre os grupos. Pela análise da Figura 1A é possível distinguir 5 grupos de vinhos do Porto Branco com características organoléticas comuns e outras diferenciativas. A Figura 1A mostra ainda que a marca BW03 caracteriza-se pela cor *branco palha*, aroma *citrino* e fim de boca *persistente*, descritor este comum à marca BW04 que se diferencia pelos descritores aromáticos *chá*, *alperce e moscatel* e sabor *ácido*. O aroma a *moscatel* também permite caracterizar a marca BW01, assim como os descritores *mel*, *amargo* e *macio*.

A cor *branco alourado, madeira* e a sensação *encorpado* são os atributos que melhor caracterizam os vinhos do Porto das marcas BW05, BW06, BW07 e BW02, ainda que esta última se distinga das restantes marcas pelos atributos *caramelo*, *doce*, *equilibrado* e *alcoólico*.

Pela Figura 1B, onde também se constata a formação de cinco grupos, verificamos que os descritores aromáticos *floral* e *frutado*, sabor *ácido* e sensação *encorpado* são os atributos que melhor caracterizam os vinhos do Porto Ruby das marcas BR02 e BR04; enquanto BR01 e BR03 pelos aromas a frutos vermelhos e álcool, e de sabor mais doce. A cor ruby mais intensa diferencia o BR03 das restantes marcas. O Ruby BR06 distingue-se pelas notas aromáticas de citrino, sensações *adstringente e alcoólico* e fim de boca *persistente* e, o BR05 é caracterizado por descritores de sensações – *macio* e *equilibrado*.

A Figura 1C ilustra o posicionamento de cada marca de vinho do Porto da categoria Tawny (Δ) no mapa bidimensional das duas componentes retidas, e a sua posição relativa às variáveis originais (descritores). As seis marcas de vinho do Porto Tawny estudadas formam cinco grupos com características organoléticas distintas entre si, com exceção de duas marcas (BT04 e BT06) que partilham os descritores ácido, álcool e adstringente e se diferenciam pelo atributo encorpado. As notas a frutos vermelhos e sabor doce são os atributos que melhor distinguem o Tawny BT02; e a limpidez, aroma frutado, sensações alcoólico e equilibrado e fim de boca persistente são os atributos que melhor distinguem os Portos BT03 e BT05. Estes são igualmente os vinhos com menor intensidade no descritor alourado e maior intensidade a notas aromáticas a frutos, o que parece lógico encontrarem-se na componente oposta ao atributo alourado, uma vez que a cor mais escura, a lembrar um tinto alourado, está mais associado a aromas e flavor frutado e frutos vermelhos. Durante o período de envelhecimento, os vinhos sofrem várias alterações com maior consequência na cor e nos aromas do vinho (BARBE et al. 2008). A cor alourada do Tawny está assim relacionada com estes fenómenos de oxidação que decorrem durante o envelhecimento, promovido com maior intensidade quando em balseiro ou barricas. Os resultados da Figura 1C evidencia esta relação, os atributos cor alourado e aroma madeira encontram-se na mesma componente e fortemente correlacionados, e com intensidades médias, o aroma a frutos secos, igualmente associado ao envelhecimento, e a sensação de macio proporcionado pela polimerização dos taninos decorrentes do envelhecimento dos vinhos. Estes atributos permitem caracterizar e diferenciar o Tawny BT01 dos restantes vinhos.

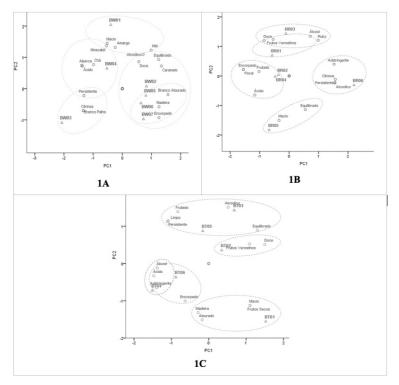


Figura 1 - Projeção dos descritores (loadings) das dezanove marcas de vinhos do Porto Branco (1A), Ruby (1B) e Tawny (1C) na componente principal 1 (PC1) e 2 (PC2).

CONCLUSÕES

Pela análise feita concluímos que das sete marcas de vinhos do Porto Branco, quatro (BW02, BW05, BW06 e BW07) têm atributos muito similares, de cor *alourado*, notas aromáticas a *madeira* e vinhos encorpados, ainda que BW02 se distinga pelo aroma *caramelo*, *doçura*, e sensações *equilibrado* e *alcoólico*; o Branco BW04 é comum ao BW01 no aroma *moscatel*, e ao BW03 na persistência; BW01 distingue-se claramente das restantes marcas, especialmente pelos atributos *mel*, *amargo* e *macio*; e BW03 pelo atributo cor (*branco palha*) e notas aromáticas a *citrino*.

Das seis marcas de vinhos do Porto Ruby, uma (BR05) distingue-se organoleticamente pelos atributos *macio* e *equilibrado* e outra (BR06) pelo aroma *citrinos*, sensações *alcoólico* e *adstringente* e fim de boca *persistente*; as restantes apesar de formarem grupos distintos possuem atributos comuns: BR01 caracteriza-se pela doçura, aromas *frutos vermelhos* e *álcool* que partilha com a marca BR03 (que se diferencia-se pela cor *ruby*); BR02 e BR04 caracterizam-se por notas aromáticas a *floral* e *frutado*, acidez e corpo. Seis marcas foram também usadas para caracterizar o Porto Tawny, as marcas BT04 e BT06, agrupadas entre si quanto aos descritores *álcool*, *ácido* e *adstringente*, e distintas na sensação de *encorpado*, possuem atributos sensoriais diferenciativos das restantes marcas; enquanto que BT03 e BT05 partilham descritores comuns, como *limpo*, *frutado*, *alcoólico*, *equilibrado* e *persistente*; duas das seis marcas (BT01 e BT02) distinguem-se organoleticamente das restantes marcas e entre si.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi co-financiado pelo Instituto de Biotecnologia e Bioengenharia, Centro de Genómica e Biotecnologia (IBB/CGB – UTAD) e pela Fundação Nacional para a Ciência e Tecnologia, Portugal FCT, projeto PEst-OE/MAT/UI4080/2011.

Os autores agradecem a todo o painel de provadores da empresa Gran Cruz (Sociedade Comercial de Vinhos, Lda. - GCU) e ainda ao Engenheiro Sousa Soares pelo interesse, sugestões e disponibilidade, e ao CEO Engenheiro Jorge Dias por acreditar no projeto e pela disponibilidade de recursos humanos e materiais necessários ao estudo, ambos da empresa Gran Cruz

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBE, J.C., PINEAU, B., et al. (2008). Instrumental and sensory approaches for the caracterization of compounds responsabiliti for wine aroma. *Chem Biodivers*, 5(6), 1170-1183.
- BARNABÉ, D., FILHO, W., et al. (2007). Análise descritiva quantitativa de vinhos produzidos com uvas Niágara Rosada e Brodô. *Braz. J. Food Technol*, 10(2), 122-129.
- BARTHELEMY, J. (1990). Evaluation d'une grandeur sensorielle complese: description et quantificationa. *In: Evaluation sensoriele-manuel methodologique*. Tec. Doc., Paris, 144.
- BEHRENS, J. e SILVA, M. (2000). Perfil sensorial de vinhos brancos varietais brasileiros através de análise descritiva quantitativa. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 20(1), 60-67.
- CALDEIRA, I., CANAS, S., et al. (1999). Formação de uma câmara de prova organolética de aguardentes velhas e seleção de descritores sensoriais. Ciência Téc. Vitiv, 14(1), 21-30.
- CLIFF, M. e DEVER, M.C. (1996). Sensory and compositional profiles of British Columbia Chardonnay and Pinot Noir wines. Food Res. Int, 29(3-4), 317-323.
- CRISTOVAM, E., PATERSON, A., et al. (2000). Differentiation of port wines by appearance using a sensory panel: comparing free choice and conventional profiling. Eur Food Res Technol, 211, 65-71.
- DOUGLAS, D., CLIFF, M.A., et al. (2001). Canadian terroir: characterization of Riseling wines from the Niagara Peninsula. Food Res. Int., 34, 559-563.
- ELORTONDO, F.J.P., OJEDA, M., et al. (2006). Food quality certification: an approach for the development of accredited sensory evaluation methods. Food Quality and Preference, 18, 425-439.
- ETAIO, J., ELORTONDO, F. J., et al. (2008). Development of a quantitative sensory method for discription of young red wines from Rioja Alavesa. Journal of Sensory Studies, 23, 631-655.
- FALQUÉ, E., FERREIRA, A.C., et al. (2004). Determination of aromatic descriptors of Touriga Nacional wines by sensory descriptive analysis. Flavour and Fragrance Journal, 19, 298-302.
- GONZALEZ, G., HARDISSON, A., et al. (2002). Sensory analysis of trditional produced red wine from the Tacaronte- Acentejo area of the Canary Islands. *Ital. J. Food Sci.*, 1(4), 35-44.
- GUINARD, J.X. e CLIFF, M. (1987). Descriptive analysis of Pinot Noir wines from Carneros, Napa and Sonoma. *Am. J. Eno. Vitic*, 38(3), 211-215.
- HEYMANN, H. e NOBLE, A.C. (1987). Descritive analysis of commercial Cabernet Sauvignon wines from California. *Am. J. Eno. Vitic*, 38(1), 41-44.
- ISO 3591. (1977). Sensory analysis -- Apparatus -- Wine-tasting glass, International Organization for Standardization, Genéve, Switzerland

- ISO 8589. (2007). Sensory analysis General guidance for the design of test rooms, International Organization for Standardization, Genéve, Switzerland
- KOUSSISSI, E., PETERSON, E., et al. (2002). Sensory discrimination of dry red wines from Greece. J. Wine Res, 13(2), 165-179.
- MEULMAN, J. (1992). The integration of multidimensional scaling and multivariate analysis with optimal transformation of variables. Spychometrica, 57, 539-565.
- NOBLE, A.C. (1987). Modification of a Standardized System of Wine Aroma Terminology. *Am. J. Enol. Vitic*, 38(1), 143-146.
- NOBLE, A.C. e PRESA-OWENS, C. (1995). Descriptive analysis os three white wines varieties from Penedes. *Am. J. Eno. Vitic*, 46(1), 5-9.
- NOBLE, A.C., WILLIAMS, A.A., et al. (1984). Descriptive analysis and quality od 1976 wines from Bourdeux communes. J. Sci. Food Agric, 35, 88-98.
- NOBLE, A.C. e SHANNON, M. (1987). Profiling Zinfandel Wines by sensory and chemical analysis. *Am. J. Eno. Vitic*, 38(1), 1-5.
- NP 4258. (1993). Análise sensorial. Directivas gerais para a concepção dos locais apropriados para análise, IPQ, Lisboa
- STONE, H. e SIDEL, J.L. (1992). *Sensory evaluation practices*. Second ed., Academic Press, San Diego. 308.

ANÁLISE SENSORIAL APLICADA À CERTIFICAÇÃO DE VINHO: UM ESTUDO SOBRE COMO TREINAR, QUALIFICAR, VALIDAR E MONITORIZAR O DESEMPENHO DE UM PAINEL SENSORIAL PROFISSIONAL

AMORIM¹, Luis; SIMÕES¹, Dora; GINÓ¹, José; MACHADO¹, Beatriz

RESUMO

A Comissão Vitivinícola Regional Alentejana definiu, como objetivo estratégico, ter um painel de prova constituído por provadores profissionais, de forma a garantir resultados fiáveis, que garantam a qualidade dos vinhos.

Para alcançar este objetivo, foi implementado um método de análise sensorial inteiramente inovador em Portugal. Como estratégia, foi definido um procedimento para avaliar a reprodutibilidade, repetibilidade e capacidade discriminação dos provadores e do painel. Para isso, foi preciso selecionar, treinar, qualificar, validar e monitorizar o desempenho de um grupo de provadores, para o incorporar num painel profissional.

Com esta estratégia, foi possível validar o método de análise sensorial e produzir resultados fiáveis e robustos para certificar a qualidade dos vinhos.

Keywords: Análise Sensorial; validação de método; monitorização de provadores; vinho do Alentejo

1 – INTRODUÇÃO

O Alentejo é uma das principais regiões de Portugal produtora de vinho, líder no mercado nacional, com a maior quota em volume e em valor, respetivamente 43.4% e 45.2%, na categoria de vinhos engarrafados de qualidade com classificação DO e IG (Fonte: *ACNielsen*, 2012). Por esta razão, a análise sensorial é fundamental para garantir a qualidade do produto no mercado.

_

¹ Comissão Vitivinícola Regional Alentejana, Laboratório de Análise Sensorial – Rua Fernanda Seno, 12 – Apartado 498 – 7006-806 Évora, Portugal, email: amorim@vinhosdoalentejo.pt

A Comissão Vitivinícola Regional Alentejana, organismo de certificação responsável pela Denominação de Origem Protegida "Alentejo" (DO) e a Indicação Geográfica "Alentejano" (IG), definiu como objetivo estratégico ter um painel de prova, constituído por provadores profissionais, de forma a garantir resultados fiáveis que garantam a qualidade dos vinhos.

A validação de um método analítico é um aspeto crucial da garantia de qualidade que, segundo a NP EN ISO/IEC 17025, não é mais do que a confirmação, através do exame e apresentação de evidência objetiva, de que os requisitos específicos relativos a uma dada utilização são cumpridos, ou seja, que o método é adequado ao uso pretendido. A utilização de um painel de provadores qualificados, e empregando uma metodologia de análise sensorial, acreditada pelo organismo oficial, para o controlo de qualidade dos

vinhos, apresenta-se como uma mais-valia para toda a região do Alenteio.

2 – MATERAL E MÉTODOS

2.1 Provadores

O recrutamento dos candidatos a provadores foi efetuado entre os funcionários da CVRA, que se mostraram disponíveis e interessados em participar neste projeto. Esta decisão, tomada pela Direcção da CVRA, justifica-se por apresentar algumas vantagens. Por um lado, os técnicos já se encontrem no local, o que se traduz numa maior versatilidade no agendamento das sessões de prova, bem como na pontualidade. Por outro lado assegura-se uma maior confidencialidade dos resultados (ISO 8586:2012) e a isenção de pressões sectoriais.

2.2 Manuseamento das amostras

No estudo, foram utilizadas amostras de vinhos tintos, rosés e brancos, aptos a DO Alentejo ou IG Alentejano, e com diferentes designativos de qualidade de forma a poder abranger a totalidade dos diferentes estilos de vinhos produzidos na região.

As amostras, codificadas de forma a garantir o seu anonimato, foram preparadas de modo a estarem nas condições ideais para prova: colocadas num refrigerador ou numa estufa e em posição vertical, para a garantir a temperatura ideal de prova dos diferentes produtos vínicos.

As sessões de prova, criadas no sistema informático da CVRA, permitem a emissão de uma lista de códigos aleatórios de 3 dígitos, por amostra e por provador sendo sempre diferentes. Esta lista de códigos serve para se proceder à marcação dos copos de prova de cada um dos provadores. Os vinhos foram servidos em copos de prova de vinho standard de 200 ml (ISO 3591:1979).

Os copos, marcados com os códigos, foram colocados na bancada individual de cada provador tendo sido servido um volume de amostra de cerca de 30-40 mL. Os vinhos brancos e rosés foram servidos à temperatura de $10^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e os vinhos tintos à temperatura $18^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Cada provador avalia as amostras de acordo com a sequência aleatória apresentada no sistema informático de prova, reduzindo deste modo a ocorrência de erros sistemáticos que resultam da prova com sequências idênticas.

2.3 Preparação e manuseamento dos padrões de aromas

Os padrões de aromas e defeitos aromáticos foram preparados utilizando como base um vinho tinto neutro, ou seja, isento de defeito e com baixa intensidade aromática, de acordo com o descrito em Noble et al., 1987. Estes padrões foram preparados com 24 horas de antecedência, e guardados a 6° C, de forma a permitir obter aromas consistentes e representativos e com a intensidade aromática desejável. Foram posteriormente apresentados aos provadores à temperatura de 20°C ± 2°C.

2.4 Avaliação dos padrões e prova de vinhos

A prova de vinhos e a identificação de aromas foi efetuada na sala de prova da CVRA. Esta sala está equipada com cabines de prova individuais, sistema informático de prova, iluminação que reproduz a luz do dia (temperatura de cor de 6500 °K) e têm um ambiente controlado para níveis confortáveis ($20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $50\% \pm 20\%$ de humidade relativa). A avaliação dos padrões foi efetuada apresentando aos provadores, em cada sessão, copos de prova pretos, contendo vários padrões de aromas presentes no vinho, bem como defeitos aromáticos. Os copos foram tapados com placas de petri de forma a evitar volatilização dos compostos aromáticos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Treino e qualificação dos provadores

3.1.1 Identificação de Aromas

Foram efetuados vários testes preliminares com padrões aromáticos cujo objetivo foi detetar incapacidades sensoriais na identificação de um ou vários aromas por parte dos provadores, bem como avaliar a sensibilidade sensorial e capacidade para descrição das perceções e memorização dos mesmos.

Foi avaliada a anosmia dos provadores através da inclusão de uma solução de β-ionona (aroma floral) em base de vinho no conjunto de padrões a ser identificados.

O treino inicial foi composto de 4 testes sensoriais repartidos por 19 sessões (dias de prova). Durante as primeiras 4, sessões foram apresentados aos provadores 50 aromas individuais codificadas com 3 dígitos e em copos pretos. A taxa de sucesso de identificação variou entre 71.4% e 91.8% na última sessão de prova.

Nos 3 testes posteriores com 5 sessões cada um, os provadores obtiveram resultados de taxa de sucesso de identificação dos aromas que variou entre 82.3% e 100%, no 1° e último dia de prova respetivamente.

Posteriormente, foram efetuados testes para qualificar os provadores quanto à sua capacidade de identificação de aromas e defeitos.

Na 1ª sessão, foi apresentado aos provadores uma folha de registo contendo o nome de 10 defeitos aos quais teriam de associar um número de copo. Da 2ª à 4ª sessão, apenas foi apresentado aos provadores a folha de prova com espaço para preenchimento do nome do defeito a associar ao copo. Para além dos defeitos, foram apresentados, de forma aleatória, referências repetidas e copos de vinho base sem adição de nenhum tipo de aroma, para evitar a identificação por eliminação. Em cada uma das sessões, os padrões foram sendo progressivamente diluídos de forma a passar do nível de saturação, para o nível de reconhecimento e para o nível de deteção. Para o reconhecimento de uma nota aromática específica é apropriado a utilização nos padrões de intensidades elevadas. No entanto, para treinar provadores, é necessário reduzir a intensidade aromática dos padrões de forma a melhor representar as características do aroma nos níveis em que usualmente se apresentam nos vinhos. As diluições foram efetuadas de acordo com o nível de deteção do Coordenador da Análise Sensorial.

Os resultados foram avaliados através da determinação da % de acerto relativamente ao número total de defeitos apresentados ao provador:

% de $acerto = \frac{N^0$ de defeitos identificados x = 100 Fórmula adaptada de Etaio e al. 2010

Para validar os provadores quanto à identificação de aromas e defeitos, foi estipulado um valor mínimo de taxa de sucesso de identificação de 75% em 3 sessões consecutivas. Os resultados variaram entre 83% e 100%.

3.1.2 Prova de Vinhos

Este treino foi realizado ao longo de diversas sessões, de forma cumprir os valores mínimos de duplicados estipulados como aceitáveis para a validação dos provadores. Estas sessões de prova tinham uma duração de 50-60 min cada uma e foram avaliadas 12 amostras de vinho por sessão (8 vinhos diferentes e 4 duplicados). Foi dada especial atenção na escolha dos vinhos, assegurando-se previamente que estes seriam diferentes em algumas das suas características. A seleção de vinhos similares poderia conduzir a uma interpretação incorreta dos resultados do painel, como não sendo discriminativo. Os provadores fízeram a sua apreciação, atribuindo pontuações a 9 parâmetros definidos numa folha de prova informatizada: Aspeto Intensidade e Limpidez, Nariz Complexidade e Intensidade, Boca Complexidade, Equilíbrio (Acidez/Doçura), Adstringência/Amargor, Corpo/Estrutura e Fim de Boca.

Cada provador atribuiu uma pontuação de intensidade percecionada num determinado descritor, assinalando uma posição numa linha (escala unipolar) contínua de 0 a 10 (ISO 4121:2003), tal como exemplificado na Figura 1.

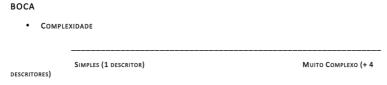


Figura 1 - Avaliação da Boca em termos de Complexidade Aromática por efeito Retronasal

• ANOVA – Análise de Variância a 3-Factores (Amostra, Provador, Duplicado);

A análise de variância é um tratamento estatístico, que visa fundamentalmente verificar se existe uma diferença significativa entre as médias e se os fatores (Amostra, Provador, Duplicado) exercem influência em alguma variável dependente, neste caso as amostras em prova. Assim permite que vários grupos sejam comparados em simultâneo, no que diz respeito à variável dependente contínua. De uma forma mais objetiva, permite determinar se existem diferenças significativas entre amostras dos produtos vinícolas, e/ou se os provadores são reprodutíveis e consistentes entre repetições - duplicados.

• Consenso entre provadores: Análise Multivariada – Tucker-1 Plot;

A multivariada análise Tucker -1 foi aplicada com o objetivo de se obter uma visão do comportamento de provador e do painel através de múltiplos fatores. A posição dos pontos nos gráficos fornece informação sobre a performance de um provador ou do painel como um todo. Quanto mais ruído existir no atributo de um particular provador, tanto mais os pontos se aproximam do centro do gráfico. Quanto mais variação sistemática tiver um atributo ou um provador, mais perto da elipse exterior vão estar os pontos no gráfico (100% variância explicada). A elipse interior representa 50% da explicação da variância e pode ser considerada como o mínimo para se considerar que os resultados variância são suficientemente bons (Figura 2 e 3).

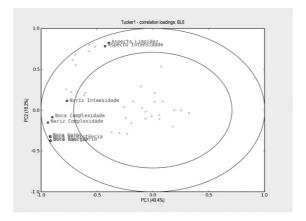


Figura 2 – Exemplo de um gráfico Tucker: o provador apresenta concordância com os restantes membros do painel em todos os parâmetros avaliados.

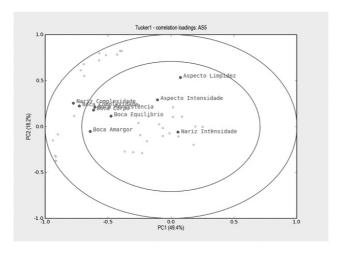


Figura 3 – Exemplo de um gráfico Tucker: o provador não apresenta concordância com os restantes membros do painel na maior parte dos parâmetros avaliados.

• Análise Univariada: Repetibilidade (Gráfico MSE)

Os gráficos MSE possibilitam a avaliação do comportamento dos provadores quanto à sua capacidade de serem consistentes na avaliação de duplicados, ou seja, a repetibilidade. Se um provador atribui a mesma classificação a um parâmetro, ou classificação muito idêntica, o seu valor de MSE deverá ser um valor baixo perto de 0. Os valores de MSE são transcritos num gráfico que permite visualizar a consistência ou não dos provadores nas amostras duplicadas para os diferentes atributos avaliados (Figura 4).

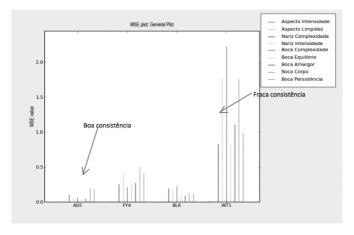


Figura 4 – Exemplo de um gráfico MSE: o provador AS5 apresenta boa consistência entre duplicados em contraste com o provador WT1.

• Análise Univariada: Capacidade para discriminar amostras: gráfico F

Os gráficos F permitem a avaliação do comportamento dos provadores quanto à sua capacidade de descriminação das diferenças existentes entre amostras. De uma forma geral, quanto maior é o valor individual de F de um provador melhor é a sua capacidade de descriminação entre amostras. Se existirem diferenças entre as amostras presentes, pretende-se obter valores de F superior a um nível de significância de 5% (Figura 5).

• Análise Univariada: Gráficos Profile e Line - Avaliação de como os provadores usam a escala e consistência entre repetições

Os gráficos "Line Plot" permitem a visualização do comportamento individual dos provadores para cada uma das amostras e para cada um dos parâmetros, comparativamente aos outros provadores e ao valor médio do próprio painel. Permitem igualmente a visualização da performance individual do provador em relação à performance média do painel. A análise dos resultados numéricos dos gráficos permite obter os valores do desvio padrão (STD) para cada um dos parâmetros e assim estimar se existem diferenças entre os duplicados acima do valor admitido (Figura 6).

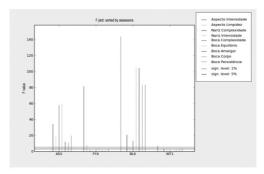


Figura 5 – Exemplo de um gráfico F: o provador BL6 apresenta boa capacidade de discriminação entre amostras.

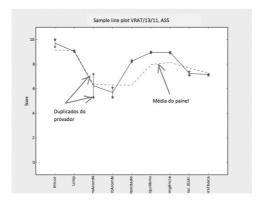


Figura 6 – Exemplo de um gráfico Line Plot representando a pontuação do provador AS5 em relação à média do painel.

Com base nos resultados obtidos ao longo do estudo foram definidos os critérios mínimos para a qualificação dos provadores e que estão descritos na Tabela 1.

Apenas os provadores que cumprirem todos os requisitos de qualificação serão integrados no painel oficial de provadores da CVRA.

3.2 Validação do método

O objetivo da validação é verificar a robustez e confiança dos resultados obtidos com o método a ser empregue com um painel de provadores qualificados, pelo que foram definidos quais os critérios requeridos para o seu cumprimento.

Os resultados individuais dos Provadores e do painel em cada sessão de prova são validados e aceites se cumprirem os critérios descritos na Tabela 2.

Tabela 1 – Critérios de qualificação de Provadores.

Parâmetro Avaliado	Critérios de aprovação
Identificação de aromas de referência e defeitos	Identificação correta ≥ 75% das referências de aromas ou defeitos.
Consenso entre provadores: Análise Multivariada – Tucker-1 Plot	Obter ≥ 75% dos parâmetros avaliados nos gráficos Tucker fora da elipse interior (a elipse interior representa 50% da explicação da variância e pode ser considerada como o mínimo para se considerar que os resultados da variância são bons o suficiente). Percentagem acumulada para cada um dos parâmetros avaliados, aspeto, nariz e boca, com base na análise de pelo menos 30 amostras em duplicado
Capacidade para discriminar amostras (gráfico F)	Obter \geq 75% dos parâmetros avaliados com valores de F superiores a um nível de significância de 5% através da análise de pelo menos 20 amostras de vinhos, com características diferentes, em duplicado.
Repetibilidade (gráfico MSE)	Obter ≥ 70% dos parâmetros avaliados com base em valores de MSE <1 (valor de MSE estimado com base na análise gráfica p*MSE a que correspondem valores de boa repetibilidade). Percentagem acumulada para cada um dos parâmetros avaliados, aspeto, nariz e boca, com base na análise de pelo menos 30 amostras em duplicado
Gráficos Profile e Line - Avaliação de como os provadores usam a escala e consistência entre repetições	Obter ≤ 15% (±2%) de valores de STD >1 (valor de desvio padrão estipulado como aceitável para a diferença entre os valores atribuídos para a mesma amostra). Percentagem acumulada para cada um dos parâmetros avaliados, aspeto, nariz e boca, com base na análise de pelo menos 30 amostras em duplicado

Tabela 2 - Critérios de validação de resultados de prova.

Parâmetro Avaliado	Critérios de Aprovação				
Avaliação da prova - Análise ANOVA 3-factores	Da análise dos resultados para o fator Duplicados e para a correlação Provador*Duplicados estes não poderão ter mais do que 2 parâmetros com um nível de significância de p<0.05. O número de parâmetros avaliados nos gráficos Tucker fora da elipse interior terá de ser ≥ 7 (a elipse interior representa 50% da explicação da variância e pode ser considerada como o mínimo para se considerar que os resultados variância são bons o suficiente).				
Avaliação do consenso entre provadores: Análise Multivariada – Tucker-1 Plot					
Avaliação da consistência entre duplicados- repetibilidade	A percentagem de valores de STD>1 (valor de desvio padrão estipulado como aceitável para a diferença entre os valores atribuídos para a mesma amostra) terá de ser <15% (±2%) do total de parâmetros avaliados (total calculado com base no produto do número de amostras provada em duplicada pelo número de parâmetros).				

No caso de os objetivos pretendidos não serem alcançados pelo painel, ou pelo provador individualmente, poderá ser necessário uma abordagem individual ao provador, por parte do Coordenador, para avaliar causas subjacentes e reforçar o treino individual.

3.3 Monitorização do comportamento dos provadores

A manutenção da qualificação efetua-se através de uma monitorização contínua dos provadores a partir da análise de duplicados de prova efetuados semanalmente nas provas de certificação de vinhos e, periodicamente, da análise de padrões de aromas/defeitos. Os provadores terão de manter os critérios descritos na Tabela 1 ao longo da avaliação contínua para serem qualificados.

No caso dos provadores não cumprirem o especificado em termos de critérios de validação de resultados, o Coordenador da Câmara de Provadores terá de averiguar, em conjunto com o(s) provadore(s), os motivos do não cumprimento de forma a harmonizar os seus resultados com os do painel. O Provador não será retirado do painel quando a sua performance não for satisfatória, no entanto, os seus dados não serão considerados para o resultado final, e serão utilizados para comparar com os do restante painel.

4. CONCLUSÃO

Os procedimentos descritos neste artigo traduzem o trabalho desenvolvido ao longo de 3 anos durante o qual foram efetuadas, para além das sessões de avaliações de padrões de aromas, 60 sessões de prova com 367 vinhos diferentes, avaliados por 10 provadores, tendo em conta que 208 foram provados em duplicado.

De realçar que esta área de trabalho ainda carece, na atualidade, de metodologias de investigação de análise sensorial específicas para a avaliação de produtos com denominação de origem. No entanto, com esta estratégia e metodologia de análise sensorial, é possível obter resultados consistentes. O painel de provadores é capaz de avaliar, de forma fiável, reprodutível e precisa, a qualidade dos vinhos. Para além disso, a constituição de uma câmara de provadores profissional, contribui para que a resposta ao Agente Económico seja mais rápida.

No futuro, esta base de dados sensoriais poderá ser articulada com uma base de dados de análises físico-químicas, o que se poderá revelar importante no conhecimento integrado das tendências de produção de vinho na região

Estes resultados revelam-se de grande importância para a certificação de uma região vinícola que procura, constantemente, garantir a qualidade dos vinhos. É também um método que pode ser aplicado à avaliação sensorial de vinhos de outras regiões vinícolas que visem certificar a qualidade dos seus produtos de uma forma consistente.

Este é o painel e método atualmente utilizado para certificação dos vinhos do Alentejo e foi acreditado pelo IPAC, em dezembro de 2012, de acordo com a NP EN ISO/IEC 17025

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

EA-4/09:2003 – Accreditation For Sensory Testing Laboratories, EA European co-operation for Accreditation.

Etaio, I., Albisu, M., Ojeda, M., Gil, P. F., Salmerón, J., & Pérez Elortondo, F. J. (2010).

Sensory quality control for food certification: A case study on wine. Method development. Food Control, 21, 533–541.

Etaio, I., Albisu, M., Ojeda, M., Gil, P. F., Salmerón, J., & Pérez Elortondo, F. J. (2010).

Sensory quality control for food certification: A case study on wine. Panel training and qualification, method validation and monitoring. Food Control, 21, 542–548.

- ISO 3591, 1977 Sensory analysis. Apparatus. Wine-tasting glass, Geneva (Switzerland), International Organization for Standardization.
- ISO 3972, 1991 Sensory analysis. Methodology. Method of investigating sensitivity of taste, Geneva (Switzerland): International Organization for Standardization.
- ISO 4121, 2003 Sensory analysis. Guidelines for the use of quantitative response scales, Geneva (Switzerland): International Organization for Standardization.
- ISO 6658, 2005 Sensory analysis Methodology General Guidance, Geneva (Switzerland), International Organization for Standardization.
- ISO 8586, 2012 Sensory analysis General guidelines for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory assessors, Geneva (Switzerland), International Organization for Standardization.
- ISO 13300-1, 2006 Sensory analysis General guidance for the staff of a sensory evaluation laboratory Part 1: Staff responsibilities, Geneva (Switzerland), International Organization for Standardization.
- ISO 11132, 2012 Sensory analysis Methodology Guidelines for monitoring the performance of a quantitative sensory panel, Geneva (Switzerland), International Organization for Standardization.
- Kermit et al., 2005 Kermit, M. and Lengard, V. 2005. Assessing the performance of a sensory panelpanellist monitoring and tracking. J. Chemometr. 19(3), 154–161.
- Kwan and Kowalski, 1980 W.-O. Kwan and B.R. Kowalski, Data analysis of sensory scores. Evaluations of judges and wine score cards, Journal of Food Science 45 (1980), pp. 213–216.
- Noble et al., 1987 Noble, A. C., Arnold, R. A., Buechsenstein, J., Leach, E. J., Schmidt, J. O. & Stern, P. M. (1987). Modification of a Standardized System of Wine Aroma Terminology. American Journal of Enology and Viticulture 38, 143-146.
- Tomic, O., Luciano, G., Nilsen, A., Hyldig, G., Lorensen, K.. Analysing sensory panel performance in proficiency tests using the PanelCheck software. European Food Research and Technology, Vol 230 (2010), pp 4;
- Tormod, N., Peer, B.B. & Tomic, O. (2010). Satistics for sensory and consumer science. Wiley, Chicester. pp. 11-38.

http://www.panelcheck.com/Home/softwarefeatures

A CONTRIBUTION TO THE SENSORY PROFILE OF REGIONAL RED WINES FROM GEOGRAPHICAL INDICATIONS OF MAINLAND PORTUGAL

Aníbal COUTINHO(1), Jorge RICARDO DA SILVA(2), Patrícia ÁVILA(3)

(ABSTRACT)

Red wine sensory profiling on the 12 Protected Geographical Indications of Mainland Portugal was aimed by the application of extended sensory surveys to an expert panel including leading Portuguese winemakers, scholars, buyers and wine writers. Evidence of clusters grouping several wine regions under the same sensory profile, chiefly the three dominant influences – ATLANTIC (Coastal), VALLEYS (Continental Mountain) and SOUTHERN (Mediterranean), sometimes with sub-segments – was found and the description of typical sensory profiles was suggested. Findings on close range between wines from Protected Geographical Indications and wines from Protected Designations of Origin located within each Geographical Indication boundary were discussed as well as the role of typicality.

Key Words: SENSORY PROFILES RED WINES ZONING TYPICALITY

1. INTRODUCTION

Production and trading of wine is secular in Portugal. Since the beginning of Portuguese cartography there has been a concern for geographical definition of viticultural and wine producing regions (Marques 2009). Subsequent boundaries or limits were drawn and changed on the basis of public-private interests, not without the loss of an accurate timeline and documented evidences, giving the amount of entities involved, since the monarchy, through the republican revolution and new-state dictatorship, until the young democracy and the communal supra-national policies within the European Union (Fernandes 2011).

-

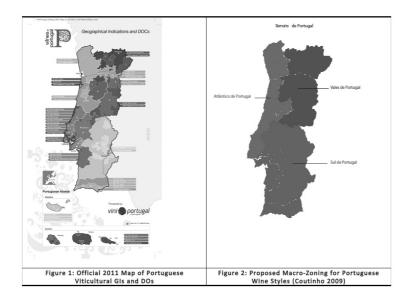
⁽¹⁾ Doutorando, Instituto Superior de Agronomia (ajosecoutinho@gmail.com)

⁽²⁾ Professor Catedrático, Instituto Superior de Agronomia (jricardo sil@isa.utl.pt)

⁽³⁾ Professor Associado, Instituto Superior de Ciências do Trabalho e da Empresa (patricia.avila@iscte.pt)

Today, there are 12 Protected Geographical Wine Indications in Mainland Portugal. In such a small country as Portugal, does the actual range of 12 GI or REGIONAL wines correspond to a decision making process based on 12 unique and typical wine sensory profiles, so different one another that clearly fit alone on the cognitive memory – in opposition to the emotional or affective one – in the consumers mind?

The starting point for this study was the author's (published) statement that the red wines coming from 12 Protected Geographical Indications of Mainland Portugal didn't correspond to 12 different sensory profiles one for each Geographical Indication (Coutinho 2010; Coutinho 2011). Those 12 GI or Regional red wines could be grouped into three major macro-zonings that originate a much broader territorial reading. The author has published several Portuguese wine guides and, through those books and lectures, has tried to set an intermediate stage of three macro-zonings that would encompass all Portuguese wine regions, generating three Portuguese wine profiles: the *Atlantic wines*, born and raised in coastal fresh and humid climates; the *Valley (or Mountain) wines*, from continental inland mountains, naturally concentrated and balanced; and the *Southern wines*, typical round and sweet Mediterranean juices.



2. EXPERIMENTAL

Maybe with innovative usage and, therefore, lacking more studies with similar methodologies, the experimental design was based on the application of extensive sensory profiling questionnaires (Coutinho 2012), assessed by 20 renowned winemakers and referenced scholars, opinion leaders, buyers and experts from the Portuguese wine industry. The number of respondents is higher than the number of sample wines used in various studies cited in the literature review (Coutinho 2012).

Over 20000 database entries were retrieved, placed in an EXCEL worksheet and subsequently analyzed using SPSS (Statistical Package for Social Sciences). After the application of various statistical techniques (Grimm 2004) the results support some conclusions that seem to indicate a valid and until now less explored field of research.

3. RESULTS AND DISCUSSION

Certainly justified by the Portuguese secular art of making and trading wine and the long path filled with public-private interests regarding the delimitation of mainland Portugal wine regions, the present boundaries of the 12 Geographical Indications, assessed by the typicality of their 12 REGIONAL wines were sensory validated once all GIs showed differences with significant statistical meaning (at least in 1 descriptor) which was verified by the ANOVA method, considering one fixed factor – the Geographical Indication – and considering data regarding all 40 descriptor queries. Evidence was found, however, of proximities, some extremely strong, which multivariate statistical methods will validate and due results will sustain the existence of sensory aggregations between GIs and extended geographical clusters or macro-zonings with similar sensory profile.

Considering the higher level of expertise gathered around this panel of wine professionals, results have showed a surprisingly low cognitive knowledge about one particular Geographical Indication: the smaller GI Terras de Cister and some focal distance regarding GI Algarve down on the extreme south and IG Transmontano up on the northern border. For IG Terras de Cister does not showcase its certified IG wines on any big or medium Portuguese retailer. However IG Algarve has a scarce number of listed wines/producers nationwide and IG Transmontano wines stand midway from the previ-

ous regions. The future development of such small and unknown GIs should be discussed by the industry.

The expert panel's assessment showed a significant similarity between the sensory profile of wines certified as Protected Geographical Indication (or Regional) and those certified as Protected Designation of Origin. The regions that scored higher in typicality of their Designations of Origin in relation to GI (or Regional) wines have, in general, a much limited number of DO authorized or dominant grape varieties. Perhaps this factor may justify the panel's assessment and inspire a broad national debate on the current position and future of Designations of Origin in Mainland Portugal.

The application of Multivariate Principal Components Analysis to a vast majority of the survey descriptors aimed to characterize the aroma of red wines, thus compiled according to the most recent studies reviewed in the literature chapter, showed a significant simplification of discriminating measures that was found sufficient for the panel specialists and represent an important aggregation of sensations which, a priori, the scientific community tend to discriminate. In the case of red wine, the aromatic intensity (NOSE_intens_mean), which does not respond qualitatively, rather quantitatively, was kept isolated from the 18 initial aroma descriptors, finally grouped into five main components:

NOSE_youngwoody_mean, NOSE_ripefruit_mean, NOSE_greenoffflavour_mean, NOSE_overripe_mean and NOSE freshmineral mean.

With small rearrangements it was possible to find an aggregate sensory measurement that resulted coherent and significantly discriminating. The simplification procedure was based on the panelists' assessments and should deserve a closer look and debate by the scientific community regarding the use of highly specific and less obvious sensory descriptors unable to find a proper understanding and extended use by the industry. This concern is finding increasing support within the scholar world itself (Quandt 2007; Loureiro 2012).

The application of Multivariate Principal Components Analysis to a vast majority of the survey descriptors aimed to characterize the gustatory and tactile taste of red wines, thus

compiled according to the most recent studies reviewed in the literature chapter, showed a significant simplification of discriminating measures that was found sufficient for the panel specialists and represent an important aggregation of sensations which, a priori, the scientific community tend to discriminate.

Rotated Component Matrix*									
		Component							
	1	2	3	4	5				
NOSE woody	,814	,054	,085	,151	,111				
NOSE spice	,674	,020	,236	,154	,206				
NOSE red	,644	,139	,088	-,253	,346				
NOSE pastry	,595	,185	,012	,426	,040				
NOSE caramel	,492	,442	,083	,433	-,219				
NOSE black	,058	,846	-,131	-,140	,249				
NOSE stone	-,027	,809	,054	,167	,048				
NOSE raisin	,251	,717	-,092	,351	-,230				
NOSE jam	,513	,650	-,200	,203	-,086				
NOSE chemical	-,036	,064	,757	-,026	-,095				
NOSE veg	,292	-,192	,742	-,157	,177				
NOSE animal	-,012	-,024	,733	,307	,109				
NOSE herbal	,231	-,160	,709	,094	,243				
NOSE dry flor	,157	,058	,189	,763	,234				
NOSE dry	,118	,206	-,009	,691	,216				
NOSE flor	,304	,046	-,079	,077	,784				
NOSE mineral	,110	-,091	,218	,208	,697				
NOSE citrus	-,001	,177	,381	,290	,574				

Table 1: Rotated Component Matrix regarding Red Wine Variables on Aroma

Total Variance Explained							
Component			Initial Eigen	values	Rotation Sums of Squared Loadings		
		% of Total Variance Cumul			Total	% of Variance	Cumulative %
1	WOODY & SPICY	4,8	26,5	26,5	2,7	15,2	15,2
2	RIPE FRUIT	3,2	17,9	44,4	2,7	15,1	30,3
3	GREEN & OFF FLAVOUR	1,5	8,5	52,9	2,5	14,1	44,5
4	OVERRIPE AROMA	1,3	7,4	60,3	2,0	11,2	55,6
5 UNOAKED FRESH & MINERAL		1,1	6,4	66,7	2,0	11,1	66,7

Table 2: Total Variance Explained by 5 Principle Components on Red Wine Aroma

The 14 initial taste descriptors were finally grouped into four main components:

TASTE_dryastringent_mean; TASTE_sweetviscous_mean; TASTE_coastal-fresh_mean and TASTE_persistent_mean.

With small rearrangements, it was possible to find an aggregate sensory measurement that resulted coherent and significantly discriminating. In the next sub-chapter attention will be given to the absence of a pre-stage calibration test. However the simplification procedure was based on the experts' assessments and should deserve a closer look and debate by the scientific community regarding the use of highly specific and less obvious sensory descriptors unable to find a proper understanding and extended use by the industry, chiefly on tannins tactile range of descriptors.

The application of multivariate cluster analysis to the whole array of single and aggregate sensory measures has confirmed the existence of macro-zoning sensory proximities which, partly, confirms this research initial hypothesis and, more important, validated the scope of the present assay confirming a valid investigation line.

	Rotated Cor	nponent Mat	rixa	
		Comp	onent	
	1	2	3	4
TASTE grain	0,879	-0,073	0,071	0,122
TASTE rough	0,862	-0,216	0,154	0,075
TASTE astringent	0,812	-0,341	0,186	0,165
TASTE dry	0,787	-0,045	0,247	-0,186
TASTE sweet	-0,071	0,886	0,071	-0,092
TASTE alcohol	-0,299	0,799	-0,113	0,168
TASTE smooth	-0,163	0,787	-0,045	0,206
TASTE oily	0,044	0,622	-0,166	0,583
TASTE acid	0,492	-0,621	0,363	0,187
TASTE salt	0,084	0,025	0,864	0,009
TASTE bitter	0,393	-0,011	0,715	0,053
TASTE bubbly	0,167	-0,395	0,572	-0,209
TASTE length	0,188	-0,107	0,077	0,862
TASTE full body	-0,078	0,466	-0,1	0,714

Table 3: Rotated Component Matrix regarding Red Wine Variables on Taste

Total Variance Explained									
		Extraction	Extraction Sums of Squared Loadings				Rotation Sums of Squared Loadings		
	Component Total		% of Variance	Cumulative %	Total	% of Variance	Cumulative %		
1	DRY & ASTRINGENT	5,4	38,4	38,4	3,4	24,2	24,2		
2	SWEET & VISCOUS	2,7	18,9	57,3	3,4	24,1	48,3		
3	COASTAL & FRESH	1,4	10,4	67,7	1,9	13,6	61,9		
4	PERSISTENT	1,0	7,3	75,0	1,8	13,1	75,0		

Table 4: Total Variance Explained by 4 Principle Components on Red Wine Taste

The REGIONAL red wines in mainland Portugal results led to a sensory aggregation around 4 clusters, which explanatory sensory characterization may be found in chapter 4: SUL DE PORTUGAL (IG Península de Setúbal + IG Tejo, IG Alentejano, IG Algarve); VALES CENTRAIS (IG Duriense + IG Terras do Dão); ATLÂNTICO TEMPERADO (IG Beira Atlântico + IG Lisboa) grouped with VALES PERIFÉRICOS (IG Terras da Beira, IG Transmontano, IG Terras de Cister); ATLÂNTICO SUPER HÚMIDO (IG Minho).

Sub-segments of the central cluster were segregate in ATLÂNTICO TEMPERADO and VALES PERIFÉRICOS with discriminating and significant results, mainly on the color evaluation and the taste assessment. Sensory description of referred 5 profiles found scientifical support on literature review of various specific areas of sensory, viticultural, oenological and bio-climatic knowledge.

Means by aggregate descriptor reveal some characteristics that sustain the fast clustering dynamics encompassing the 4 SUL DE PORTUGAL IGs and help envisaging a typical sensory profile:

- a) Color tonality is fully inclined to the Ruby/Garnet choice, related to warm climate viticultural regions, namely semi-arid mediterranean (Magalhães 1995; Fernandes 2010).
- b) The aroma profile shows na intense raisiny and jammy black and stone fruit character (NOSE_ripefruit_mean= 5,82) opposite to a low mineral, floral and citrus fruit presence (NOSE_freshmineral_mean= 3,11). Higher in aromatic intensity (NOSE_intens_mean= 6,36) and welcoming frequent woody, spicy and young yeasty

red fruit notes (NOSE youngwoody mean= 4,71).

c) Taste characterization shows clear typicality on sweet and oily intensive textures, higher alcohol driven tactile sensations, weekness of fresh acidic taste and tannin smoothness (TASTE_sweetviscous_mean= 6,11). Lowest levels of dry, astringent, rough and grain tannin-related mouthfeel are frequent (TASTE_dry_astringent_mean=3,67) in these medium bodied and fairly persistent southern red wines (TASTE_persistent_mean= 5,58), showing one of the lowest levels (TASTE_coastalfresh_mean= 1,80) of salty, bitter and bubbly sensations (thus, a good example of what Portuguese consumers generally call Vinhos Maduros (ripe wines)).

Regarding the color evaluation, the expert panel's judgement was fully related to the final aggregations of several Geographical Indications in fewer clusters and in accordance to the most recent studies on wine color.

	Sul d Portug		Vale: Centra		Vale Perifér		Atlânt Tempe		Atlânt Supe Húmi	er
	Tejo Pen. Setúbal Alentejo Algarve		Durien Terra do Dâ	s	Terras da Beira Transmontano Terras de Cister		Beira Atlântico Lisboa		Minho	
	Mean	N	Mean	N	Mean	N	Mean	N	Mean	N
COR_ton_mean	2,83	4	1,83	2	2,43	3	1,91	2	1,11	1
COR_intens_mean	6,51	4	7,08	2	5,84	3	6,00	2	8,58	1
NOSE_intens_mean	6,36	4	6,93	2	5,44	3	5,33	2	5,84	1
NOSE_youngwoody_mean	4,71	4	4,64	2	3,95	3	4,16	2	2,93	1
NOSE_overripe_mean	3,30	4	3,55	2	3,15	3	3,12	2	1,89	1
NOSE_freshmineral_mean	3,11	4	5,00	2	4,00	3	3,70	2	3,35	1
NOSE_ripefruit_mean	5,82	4	5,11	2	4,19	3	3,70	2	3,24	1
NOSE_greenoffflavour_mean	3,52	4	3,88	2	3,86	3	4,62	2	5,26	1
TASTE_dry_astringent_mean	3,67	4	4,82	2	4,91	3	5,45	2	6,43	1
TASTE_sweetviscous_mean	6,11	4	5,09	2	4,39	3	3,71	2	2,43	1
TASTE_persistent_mean	5,59	4	6,88	2	5,88	3	5,48	2	5,03	1
TASTE_coastalfresh_mean	1,80	4	1,75	2	2,01	3	2,87	2	3,79	1

Table 5: Red Wine Sensory Descriptor Means and number of regions (N) per justified cluster



Figure 3: Portugal Map with Red Wines IG Cluster representation by colour

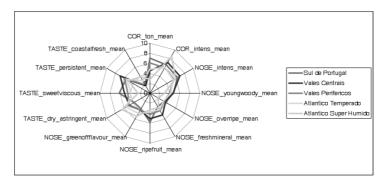


Figure 4: Web representation of Red Wine Sensory Descriptor Means per immediate cluster

Initial hypothesis of a single sensory profile covering the mountain or VALES DE PORTUGAL red wines did not find confirmation from the experimental design results. Instead 2 geographically neighbour sub-segments did show sensory proximity as explained below. Therefore sensory profiles of VALES CENTRAIS (Duriense and Terras do Dão) and VALES PERIFÉRICOS (Terras da Beira, Transmontano and Terras de Cister) will be described.

VALES CENTRAIS macro-zoning was presented as an immediate clustering output. According to the cluster analysis method, and referring to the related aggregate means, sensory profile may be explained with the following characterization:

- a) Color tonality is typically Purple/Ruby (COR_ton_mean= 1,83), which is characteristic of fresh/cool climate continental regions, with extreme thermal amplitudes (Fernandes 2010), explaining one of the highest color intensities (COR_intens_mean= 7,08).
- b) Red wine aromatic intensity reaches the highest peak in VALES CENTRAIS (NOSE_intens_mean= 6,93). Also the mineral character, as well as floral and citrus fruit notes, maybe related with Touriga Nacional cultivar (Terras do Dão e Duriense) and Touriga Franca cultivar (Duriense), show maximum heights (NOSE_freshmineral_mean= 5,00). Average, but leading, presence of dried fruits and flowers (NOSE_overripe_mean= 3,55) point out to a heterogeneous mountain side with significant gaps in altitude and semi-arid locations near the Spanish border (Magalhães 1995), which may explain similitude with the Southern regions, as witnessed in the clustering dendogram (Fig. 23). Other proximities with the South occur on higher raisiny and jammy black and stone fruit aromas (NOSE_ripefruit_mean= 5,11) frequent woody, spicy and young yeasty red fruit notes (NOSE_youngwoody_mean= 4,64).
- c) Taste characterization shows clear typicality based on the extremely long mouthfeel persistence, which relates with the highest assessment on the body dimension of these rock-solid concentrated reds from VALES CENTRAIS (TASTE_persistent_mean= 6,88), matching closely the neighbouring peripheral valleys. Average sweet and oily textures, levelled with alcohol driven tactile sensations and medium fresh acidic taste and tannin smoothness (TASTE_sweetviscous_mean= 5,09) are also comparable to the neighbouring peripheral valleys, and the same applies to dry, astringent, rough and grain tannin-related medium (TASTE_dry_astringent_mean= 4,82). Linking with southern reds, wines from VALES CENTRAIS, showed one of the lowest levels (TASTE_coastalfresh_mean= 1,75) of salty, bitter and bubbly sensations (thus, a good example of what Portuguese consumers generally call Vinhos Maduros (ripe wines)).

VALES PERIFÉRICOS macro-zoning was presented as a sub-segment of an immediate clustering output. According to the cluster analysis method, and referring to the related aggregate means, sensory profile may be explained with the following characterization:

- a) Color tonality of red wines was assessed in an interim level between Purple/Ruby and Ruby/Garnet (COR_ton_mean= 2,43), halfway from fresh regions and warm regions typical hues. In fact, this peripheral setting includes a vast macro-zoning border which may explain bigger color amplitude. Also color intensity (COR_intens_mean= 5,84) got the lowest score. Color evaluation, with all the subjectivity that a shortened scale and the absence of a prior phase of calibration encompass, sets a significant difference between the VALES PERIFÉRICOS wine profile and neighbouring central valleys.
- b) Aromatic intensity of VALES PERIFÉRICOS red wines is one of the lowest amongst all macro-zonings (NOSE_intens_mean= 6,44), setting another difference with neighbouring central valleys and proximity relations with the Atlantic regions, although scoring means don't show enough discrimination. A global mountainous character, matching the neighbouring central valleys was found on the medium-high mineral, floral and citrus fruit assessments (NOSE_freshmineral_mean= 4,00). Aggregate descriptors referring to medium low ripe aromas (NOSE_overripe_mean= 3,15), (NOSE_ripefruit_mean= 4,19) and moderate woody, spicy and young yeasty red fruit notes (NOSE_youngwoody_mean= 3,95) may be considered interim values between neighbouring mountain regions and coastal Atlantic fresher profile, giving room to mountainous profile with even bigger presence of fresh aromas and lower fruit ripeness.
- c) Taste characterization shows clear typicality based on the extremely long mouthfeel persistence, which relates with the second highest assessment on the body dimension of these medium-high concentrated reds from VALES PERIFÉRICOS (TASTE_persistent_mean= 5,88), matching closely the neighbouring central valleys. Average sweet and oily textures, levelled with alcohol driven tactile sensations and medium fresh acidic taste and tannin smoothness (TASTE_sweetviscous_mean= 4,39) are also comparable to the neighbouring central valleys, and the same applies to dry, astringent,

rough and grain tannin-related medium (TASTE_dry_astringent_mean= 4,91). Low levels (TASTE_coastalfresh_mean= 2,01) of salty, bitter and bubbly taste are close enough to the global profile from the aggregate valleys but the slight increase suggests a fresh link towards the Atlantic regions, and some typicality on the acid-fresh mountainous sensory profile.

Initial hypothesis of a single sensory profile covering the coastal or ATLÂNTICO DE PORTUGAL red wines did not find confirmation from the experimental design results. Instead 2 geographically neighbour sub-segments did show sensory proximity as explained below. Therefore sensory profiles of ATLÂNTICO TEMPERADO (Beira Atlântico e Lisboa) and ATLÂNTICO SUPER HÚMIDO (Minho) will be described. ATLANTICO TEMPERADO macro-zoning was presented as a sub-segment of an immediate clustering output. According to the cluster analysis method, and referring to the related aggregate means, sensory profile may be explained with the following characterization:

- a) Color tonality is typically Purple/Ruby (COR_ton_mean= 1,91), which is characteristic of fresh/temperate climate humid regions, with low to mild amplitudes (Fernandes 2010), thus the color intensity shows one of its lowest results (COR_intens_mean= 6,00), despite its average score.
- b) The aromatic profile encompasses several similar characteristics which are common to both Atlantic sub-segments. Its overall intensity (NOSE_intens_mean= 5,33) is significantly decreasing, reaching the lowest point in the ATLÂNTICO TEMPERADO profile. Going down are all ripe and jammy fruit notes (NOSE_ripefruit_mean= 3,70) as well as dried fruits and flowers (NOSE_overripe_mean= 3,12). Mineral, floral and citrus fruit aromas are also in loss (NOSE_freshmineral_mean= 3,70) but these fresher notes are merely second to the profiles from the valleys. Also the unoaked drive (until the next Atlantic sub-segment) was found on the moderate woody, spicy and young yeasty red fruit notes (NOSE_youngwoody_mean= 4,16) and increasing leadership of green, vegetable and herbal aromas, possibly related to fresh and timid ripeness, as well as chemical and animal notes (NOSE_greenoff-flavour_mean= 4,62).

c) Along the transitional path that will drive us to the extreme northwest Atlantic, the ATLÂNTICO TEMPERADO reds present typical gustatory characteristics such as medium to high intensity (TASTE_dry_astringent_mean= 5,45) of dry, astringent, rough and grain tannin mouthfeel related to greener ripeness (Sun 2001). The freshness profile is magnified by the higher presence of salty, bitter and bubbly (carbonic gas) sensations. (TASTE_coastalfresh_mean= 2,87). In the opposite way, decreasing of persistence and thiner body evaluation (TASTE_persistent_mean= 5,48) and, chiefly, the loss of sweet and oily textures, lower alcohol driven tactile sensations and reduction of tannin smoothness (TASTE_sweetviscous_mean= 3,71). With the former aggregate measure, significant increase of fresh acidic taste, which is included in the inverted way, is also typical of the ATLÂNTICO TEMPERADO profile.

ATLÂNTICO SUPER HÚMIDO, as stated previously, presented the highest primary typicality assessments, according to the cluster analysis results, isolating the unique GI Minho and its strongly correlated inner DO Vinho Verde. Means by aggregate measure reveal some characteristics that sustain the fast clustering dynamics and help envisaging a typical sensory profile:

- a) Minho typicality shows immediately by the color characterization. A extreme young Violet/Purple hue (COR_ton_mean= 1,11), is heavily related with fresh/cool climate regions (Magalhães 1995). What seems extremely typical is the unforeseen highest color intensity amongst all Geographical Indications (COR_intens_mean= 8,58), certainly due to the presence of the dominant Vinhão inky red local cultivar. Color evaluation emcompasses a significante typicality that isolates the ATLÂNTICO SUPER HÚMIDO profile from all others.
- b) The aromatic profile encompasses several similar characteristics which are common to both Atlantic sub-segments, but more extreme. After an average overall intensity assessment (NOSE_intens_mean= 5,84), extreme lows are found in ripe and jammy fruit notes (NOSE_ripefruit_mean= 3,24) and dried fruits and flowers almost are inexistent (NOSE_overripe_mean= 1,89). Red wines seem to go unoaked, with extreme low presence of woody, spicy and young yeasty red fruit notes (NOSE_young-woody_mean= 2,93). Average presence of mineral, floral and citrus fruits notes are

- aligned with neighbouring Atlantic regions (NOSE_freshmineral_mean= 3,35). Highest peak of green, vegetable, herbal, week ripeness related aromas and strong chemical and animal note are to be found (NOSE_greenoffflavour_mean= 5,26).
- c) Located on the extreme Northwest corner of Mainland Portugal, the ATLÂNTICO SUPER HÚMIDO sensory profile presents typical gustatory characteristics such as the highest intensity (TASTE_dry_astringent_mean= 6,43) of dry, astringent, rough and grain tannin mouthfeel related to greener ripeness (Sun 2001). The freshness profile is magnified to its peak by the highest presence of salty, bitter and bubbly (carbonic gas) sensations. (TASTE_coastalfresh_mean= 3,79). Inversely, light bodied wines with average persistence also show typicality (TASTE_persistent_mean= 5,03) as well as the lowest assessment on sweet and oily textures, lower alcohol driven tactile sensations and reduction of tannin smoothness (TASTE_sweetviscous_mean= 2,43). With the former aggregate measure, maximum increase of fresh acidic taste, which is included in the inverted way, is also typical of the ATLÂNTICO SUPER HÚMIDO profile.

4. CONCLUSIONS

Although the results might be considered encouraging regarding forward research within this unexplored sensory profiling line of investigation, several hazards and limitations must be stated and discussed. In this research, sensory profiling validity and results where found on the basis of an overall global and most demanding input of the whole array of descriptors regarding COLOR, AROMA and TASTE. Discussion of segmented results regarding dual sensations (COLOR vs. AROMA or AROMA vs. PALATE) or single descriptors (TASTE_Astringent vs. TASTE_Bitter) will be presented during the following stages of this research.

In a small country such as Portugal, encompassing a low yield viticulture and a dominance of old vines in small parcels owned by even smaller producers, scientific research studies on macro-zoning, namely on sensory profiles of GI or REGIONAL certified wines, may be considered of value added and may contribute to the debate of scale factors that might result in significant gains in areas such as wine certification (3 to 5 certification boards instead of 12), admission of trans-regional wine certification for high

volume brands (ATLÂNTICO PT, VALES PT and SUL PT) and a better and clearer communication and marketing that would reach a higher group of consumers with less information.

The current moment of Portugal and its Wines should be seen as a mere photograph placed on a secular diary filled with transcendent memories that crossed generations and all Portuguese families. Diary's coming events will be of enormous added value for Portugal's wealth and living quality standard. This study, like a photograph, may be an open window through which the Portuguese wine industry may foresee new research and working processes.

5. BIBLIOGRAPHICAL REFERENCES

- Coutinho, A. (2009). Guia Popular de Vinhos 2010. Lisbon, Editorial Presença.
- Coutinho, A. (2012). A contribution to the sensory profile of regional red wines from Geographical Indications of mainland Portugal, Instituto Superior de Agronomia e Faculdade de Ciências da Universidade do Porto: 83.
- Coutinho, A., Olivier, M. and Pendock, N. (2010). <u>Guia Popular de Vinhos 2011</u>, Editorial Presença.
- Coutinho, A. a. P., N. (2011). Guia Popular de Vinhos 2012, Editorial Presença.
- Fernandes, M. G., Marques, H. (2011). Os mapas da territorialização vitícola portuguesa (1865-1908). IV Simpósio Luso-Brsileiro de Cartografia Histórica. Porto.
- Fernandes, P., Cruz, A., Vieira, C., Castro, J., Lopes, D., Lucas, C., Ribeiro, F., Ricardo-da-Silva, J.M., Castro, R. (2010). Comportamento Agronómico e Enológico das Castas Syrah e Touriga Nacional em seis "Terroirs" de Portugal. 8º Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo. Évora.
- Grimm, G. Y., P., Ed. (2004). <u>Reading and Understanding more Multivariate Statistics</u>, American Psychological Association.
- Loureiro, V., Wetzel, C. (2012). Tasting Wine: describing features or acknowledging emotions?
- Magalhães, N., Oliveira, A., Caeiro, L. (1995). Contributo para a caracterização climática das Regiões Vitícolas de Portugal Continental. . 3º Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo. Évora. 1: 81-90.
- Marques, H., Fernandes, M. G. (2009). Cartografar para compreender: a viticultura portuguesa, da difusão da filoxera á estruturação a rede das adegas cooperativas pela Junta Nacional do Vinho. <u>III Simpósio Luso-Brasileiro de Cartografia Histórica</u>. Ouro Preto, Brasil.
- Quandt, R. (2007). "On Wine Bullshit: Some New Software?" <u>Journal of Wine Economics</u>, **2**(2): 129-135.
- Sun, B., Ricardo-da-Silva, J.M. e Spranger, M.I. (2001). "Quantification of Catechins and Proanthocyanidins in Several Portuguese Grapevine Varieties and Red Wines." <u>Ciencia e Técnica</u> Vitivinícola 16(1): 23-34.

ROTA DOS VINHOS DO ALENTEJO: APLICAÇÃO DA ANÁLISE SWOT PARA AUXILIAR NA CONSTRUÇÃO DE UM PROJETO DE DINAMIZAÇÃO

Francisco SOARES¹; Maria Teresa CHICAU²; Sara PROENÇA³; <u>Goreti BOTELHO</u>⁴

RESUMO

A Rota dos Vinhos do Alentejo (RVA), enquanto estrutura do Departamento de Promoção e Marketing da Comissão Vitivinícola Regional Alentejana (CVRA), tem como principal objetivo a promoção do vinho alentejano. Este estudo centra-se na utilização da análise SWOT - Strenghts (Pontos Fortes), Weaknesses (Pontos Fracos), Opportunities (Oportunidades) e Threats (Ameaças), enquanto ferramenta de avaliação e ponto de partida para a construção de um projeto de dinamização da RVA. O projeto de dinamização proposto contempla várias recomendações, com a finalidade de contribuir para melhorias significativas ao nível do funcionamento da RVA, aproximação à população local e universitária e atividades de promoção e divulgação a desenvolver.

Palavras-chave: RVA, análise SWOT, projeto de dinamização.

¹ Escola Superior Agrária de Coimbra. Instituto Politécnico de Coimbra. Bencanta. 3040-316 Coimbra. *franciscsoares@gmail.com*

² Departamento de Marketing. Rota dos Vinhos do Alentejo. Comissão Vitivinícola Regional Alentejana. 7001-901 Évora. rota@vinhosdoalentejo.pt

³ Departamento de Ciências Sociais e Humanas. Unidade de I&D CERNAS. Escola Superior Agrária de Coimbra. Instituto Politécnico de Coimbra. Bencanta. 3040-316 Coimbra. sproenca@esac.pt

⁴ Departamento de Ciência e Tecnologia Alimentar. Unidade de I&D CERNAS. Escola Superior Agrária de Coimbra. Instituto Politécnico de Coimbra. Bencanta. 3040-316 Coimbra. goreti@esac.pt

1 - INTRODUÇÃO

As rotas do vinho devem ser encaradas como instrumentos privilegiados na organização e divulgação do enoturismo, uma vez que constituem um fator de animação e diversificação da oferta turística nacional e contribuem, dessa forma, para a atenuação da sazonalidade e para um desenvolvimento dos fluxos mais direcionados para as zonas de menor concentração da procura turística.

A RVA é uma entidade fulcral no desenvolvimento da Região do Alentejo, particularmente no que concerne aos empreendimentos na área do enoturismo.

O objetivo principal do trabalho centra-se na elaboração da análise SWOT aplicada à RVA de forma a contribuir ativamente para a sua organização, sucesso e sustentabilidade futura.

1.1 - O que é o Enoturismo?

De acordo com Deloitte (2005) enoturismo é todo o turismo, lazer e atividades de tempos-livres dedicados à descoberta e ao prazer cultural e enófilo das vinhas, do vinho e dos seus solos (figura 1). Estas atividades, de acordo com Cambourne, citado por Getz (2000), devem facultar ao visitante uma oportunidade de experimentar e contactar com uma história, uma tradição e cultura, com uma gastronomia específica, com novos sons, cheiros e sabores resultando numa combinação da cultura aí evidenciada com um modo de vida próprio e com o território em que se inserem.



Figura 1 - Pilares do enoturismo (adaptado de Deloitte, 2005)

Planear e desenvolver o enoturismo de uma região requer conhecer a capacidade de carga do ambiente natural e cultural (Novais e Antunes, 2009). O conceito de enoturismo não se centra apenas no produto que é o vinho; explora todos os elementos que o envolvem. Esta forma de turismo, utilizando o vinho como motivação principal engloba também as quintas e adegas, a gastronomia, o património, a cultura local, atividades de lazer e infraestruturas.

1.2 - As Rotas do Vinho

As rotas do vinho existem na Europa há mais de 50 anos e são hoje consideradas fundamentais para a definição e implementação das estratégias de enoturismo em cada uma das regiões em que se inserem. Segundo Correia (2005), elas representam um processo de inovação num contexto de economia global, mas não deixam de promover a qualidade dos sistemas vitivinícolas e de se assumirem como uma estrutura de coordenação de uma rede territorial. De acordo com Dias (s/d), as rotas do vinho devem ser instrumentos de desenvolvimento rural, estruturantes para o turismo e potencialmente criadoras de receitas adicionais para as populações rurais, e proporcionar "qualidade" e a "organização da oferta". Estas constituem pólos que podem potenciar os recursos vitivinícolas existentes numa localidade e/ou região, funcionam como alavancas do desenvolvimento local/regional (Simões, 2008) e como "elo" de ligação entre os visitantes e os produtores de vinhos (aderentes).

Em Portugal, o projeto das rotas do vinho nasceu em 1993, com a participação do nosso país no programa *Dyonisios* promovido pela União Europeia. O Despacho Normativo nº669/94, que incentivava financeiramente tais iniciativas, preparou as bases regulamentares, os critérios de qualidade e seleção para a implementação das rotas em Portugal (Simões, 2008).

Atualmente existem 14 rotas do vinho, distribuídas por Portugal (Quadro 1). Estas rotas apresentam estruturas organizativas e funcionais diversas, evidenciando diferentes estádios de desenvolvimento

Quadro 1 – Principais características das rotas do vinho em Portugal (adaptado de Novais e Antunes, 2009).

Rotas	Inauguração	Aderentes Iniciais	Aderentes em 2012	Sede	Organismo Coordenador
Rota do Vinho do Porto	1996	49	Não disponível	Régua	RVP – Associação de Aderentes
Rota dos Vinhos Verdes	1997	30	53	Porto	CVR dos Vinhos Verdes
Rota do Vinho do Dão	Está em pro	cesso de reestr	uturação	Viseu	CVR do Dão
Rota das Vinhas de Cister	1999	6	9	Moimenta da Beira	CVR Távora Varosa e R.T. Douro Sul
Rota da Vinha da Beira Interior	1999	11	40	Guarda	CVR da Beira Interior
Rota do Vinho da Bairrada	1999	23	34	Anadia	CVR Bairrada
Rota da Vinha e do Vinho do Tejo	1998	24	19	Santarém	Associação da Rota V.V. do Tejo
Rotas dos Vinhos de Lisboa	1997	15	26	Alenquer	Região de Turismo de Lisboa
Rota do Vinho de Vinhos da Península de Setúbal	2000	9	15	Palmela	Casa Mãe da Rota de Vinhos
Rota dos Vinhos de Bucelas, Carcavelos e Colares	2003	4	4	Bucelas	CVR de Bucelas, Carcavelos e Colares e CM Loures
Rota dos Vinhos do Alentejo	1997	24	66	Évora	CVRA
Rota do Vinho da Ilha do Pico	2008	8	11	Horta	ADELIAÇOR
Rota do Vinhos Verde Alvarinho	2008	42	57		CM Melgaço
Rota dos Vinhos do Algarve	Início de ativi	Associação da Rota dos Vinhos do Algarve			
	Total	245	334		

O Quadro 1 permite-nos verificar que o número de aderentes às rotas do vinho tem vindo a aumentar, o que resulta de uma maior aceitação e interesse dos produtores, que advém de um trabalho contínuo realizado pelas rotas no sentido de os informar e convencer a aderir, assim como da crescente adesão do público às atividades por elas desenvolvidas.

1.3 - Caracterização da RVA

A RVA foi criada em 17 de Maio de 1995, resultante de um protocolo celebrado entre a CCRA - Comissão de Coordenação da Região Alentejo, a ATEVA - Associação Técnica dos Viticultores do Alentejo e a CVRA – e a Comissão Vitivinícola Regional Alentejana, entidades subscritoras do referido protocolo, e gestoras da Rota. Mas é em 1997 que, oficialmente, a RVA dá início à sua atividade, abrindo as suas portas ao público na sua sede, denominada Gabinete de Apoio dos Vinhos do Alentejo. A RVA pertence ao Departamento de Marketing da CVRA e tem como objetivo a promoção dos vinhos do Alentejo e dos projetos de enoturismo desenvolvidos pelos produtores de vinho da Região do Alentejo.

2 - ANÁLISE SWOT

A análise SWOT é uma ferramenta de gestão importante para o desenvolvimento de uma estratégia empresarial. O acrónimo SWOT é oriundo do inglês, que traduzido significa: Forças (*Strengths*), Fraquezas (*Weaknesses*), Oportunidades (*Opportunities*) e Ameaças (*Threats*). Nesta análise, quando se faz referência a oportunidades e a ameaças estão-se a referir os fatores externos à empresa, enquanto a referência a forças e fraquezas tem implícitos fatores internos. Ela resulta de uma síntese das análises externa e interna (oportunidades e ameaças/forças e fraquezas), que permitem identificar os elementos chave para a gestão de uma empresa. A importância desta análise é enorme uma vez que gera uma visão de 360°, tonando-se fundamental para antecipar problemas e definir e desenvolver estratégias (IAPMEI, s/d; Lindon *et al.*, 2004). A análise SWOT foi aplicada à RVA e apresentam-se no Quadro 2 os resultados obtidos.

Quadro 2 – Análise SWOT adaptada à RVA.

SWOT	Descrição
Forças	Notoriedade dos Vinhos do Alentejo;
	 Autenticidade, genuinidade e certificação dos Vinhos do Alentejo;
	Qualidade ao nível das infraestruturas e acolhimento prestados pelos produtores aderentes ao projeto;
	Boa localização geográfica e acessibilidade das adegas aderentes;
	 Possibilidade de realizar visitas durante todo o ano;
	 Sinalização implementada no terreno;
	Acolhimento personalizado ao turista/visitante no Gabinete de Apoio da RVA;
	▶ Qualidade da gastronomia e produtos regionais.
Fraquezas	Encerramento da maioria das adegas aos fins de semana e feriados, recebendo
	somente mediante marcação antecipada;
	Inexistência de sinalização do Gabinete de Apoio da RVA;
	Me Horários praticados pelo Gabinete de Apoio;
	Falta de um serviço de meios de transportes que levem o turista às adegas;
	Fraca ligação entre a RVA e a população Local;
	Localização (pouca afluência de público na Praça Joaquim António de Aguiar).
Ameaças	 Vazio legal ao nível do enoturismo nacional;
	№ Pouca sensibilidade por parte de alguns aderentes à Rota dos Vinhos do Alentejo;
	Atual conjuntura social e económica nacional;
	Temperaturas elevadas durante o verão;
	Elevada sazonalidade na Região.
Oportunidades	* Crescimento da Região do Alentejo como produto turístico;
	Atual conjuntura económica nacional, no sentido em que poderá voltar o turista português para a oferta turística de Portugal;
	Expansão do projeto da RVA para outros locais do Alentejo durante a época Alta;
	Complementaridade com a restante oferta turística da Área Regional de Turismo do Alentejo e dos Pólos de Desenvolvimento Turístico do Alqueva e do Litoral Alentejano.

2.1 - Proposta de plano de dinamização da RVA

Com base na análise SWOT foi possível elaborar uma proposta de plano de dinamização da RVA. Esta encontra-se descrita de seguida e inclui 11 linhas de ação onde pode e deve ser feita uma intervenção no sentido de se incrementar a funcionalidade e visibilidade da RVA

Alteração do horário de funcionamento

O Gabinete de Apoio da RVA deveria estar aberto de 2ª-feira a domingo durante o mês de Agosto, na medida em que o possível número de visitantes justifica a sua abertura.

Criação de um sistema de meios de transporte

Muitos são os turistas que se deslocam ao Gabinete de Apoio da RVA e que demonstram a vontade de visitar algumas adegas, mas que não possuem um meio de transporte que lhes possibilite a deslocação aos locais que desejam visitar. Para solucionar este problema poderiam ser estabelecidos acordos com taxistas para deslocações às adegas mais próximas ou recorrer a autocarros para percursos mais longos. Este autocarro poderia transportar os turistas numa rota pré-definida, possibilitando-lhes visitar as adegas que desejam e para as quais não existe transporte. Atendendo a que este é um problema que se estende a outros tipos de turismo, este autocarro poderia ser partilhado por turistas com outros tipos de interesse, aumentando assim o seu número de utilizadores.

Atualizações de informação

Atualização da informação relativa à oferta turística de cada aderente da RVA, assim como da informação sobre a oferta turística e os locais de interesse a visitar na Região do Alentejo, com o objetivo de conjugar o enoturismo com outras formas de turismo. Esta estratégia permitiria dar resposta aos diferentes tipos de turistas e às suas motivações e atrair mais turistas para o enoturismo do Alentejo, mesmo que o principal objetivo da sua deslocação não esteja relacionado com o vinho.

Deslocação do espaço de ação do Gabinete de Apoio da RVA

Atendendo a que o Gabinete de Apoio da RVA é o local onde se cinge a ação do seu pessoal, a expansão da RVA para outras áreas do Alentejo durante a época alta seria uma

boa oportunidade para atrair mais turistas para o enoturismo e dar a conhecer o vinho alentejano ao público. Esta "expansão" poderia desenvolver-se com a organização de atividades pontuais "fora de portas", nomeadamente de prova de vinhos, através das quais se desse a conhecer o projeto da RVA e a oferta turística dos seus aderentes.

Aproximação da RVA à população local

A população local e os estudantes universitários, além de deverem ser vistos como possíveis visitantes, devem também ser entendidos como uma parte integrante do sistema turístico da Região na medida em que são estes que acolhem o turista e, em muitos casos, os aconselham sobre os locais a visitar na sua cidade. Seria pois importante criar iniciativas ao longo do ano, na cidade de Évora, que aproximassem e dessem a conhecer a RVA à população local e aos estudantes universitários.

"Dar vida à Praça Joaquim António de Aguiar"

A Praça Joaquim António de Aguiar não é um local muito procurado pelos turistas. Uma forma de resolver este problema seria desenvolver atividades neste espaço, pelo menos durante a época alta. Estas poderiam ser desenvolvidas em conjunto com outros negócios estabelecidos na Praça, como forma de lhe dar mais vida e, consequentemente, chamar mais pessoas para os negócios existentes nesse espaço, inclusivamente para a RVA.

Criação de sinalética na Cidade de Évora para o Gabinete de Apoio da RVA

Atendendo à dificuldade de aprovação de uma proposta de sinalização pelos organismos responsáveis, pelo facto de o Centro Histórico da Cidade de Évora ser considerado pela UNESCO como Património da Humanidade, seria importante criar outra forma (temporária) de sinalizar o Gabinete de Apoio da RVA. Uma ideia seria escolher locais chave, como restaurantes, cafés, lojas e outros locais que os turistas frequentam para aí colocar a informação sobre a localização da RVA (vitrinas, portas, expositores, etc).

Abertura do Gabinete de Apoio da RVA no período nocturno

Tendo em conta que as temperaturas elevadas durante o verão condicionam a afluência de público ao Gabinete de Apoio RVA durante o período diurno, seria interessante adaptar os horários de funcionamento da instituição, abrindo-a à noite durante a época alta.

Esta abertura noturna e a diversificação do leque de atividades proporcionadas pela RVA permitiriam atrair visitantes que procuram apenas um espaço para estar a "beber um copo", potenciando assim a expanção do leque de experiências transmitidas ao turista. A transformação do Gabinete de Apoio num *Winebar* durante o período da noite, aliada à organização de atividades como exposições, concertos, entre outras, permitiria promover não apenas o vinho, mas também a identidade da Região Alentejana. Estas atividades chamariam a atenção do turista e da própria população local e dariam à RVA a possibilidade de promover o vinho alentejano a um público que, à partida, poderia não estar muito interessado nesta temática.

Aproximação aos estudantes universitários

Criação de protocolos com a Universidade de Évora e com a Associação Académica da Universidade de Évora, com o objetivo de os estudantes e professores frequentarem as atividades realizadas pelo Gabinete de Apoio da RVA e os seus aderentes. Este "acordo" poderia proporcionar descontos nas atividades realizadas ou mesmo a organização de atividades exclusivas, como workshops, para as pessoas pertencentes a estas instituições.

Promover os artistas e a Região do Alentejo

O Gabinete de Apoio da RVA possui espaço que poderia ser utilizado para promover a cultura e as tradições alentejanas. A partir de exposições temáticas sobre o Alentejo ou expondo obras de artistas alentejanos, a RVA prestaria um serviço importante na promoção da cultura alentejana e dos seus artistas.

Diversificação das atividades desenvolvidas pelos aderentes da RVA

Os diversos produtores aderentes ao projeto da RVA possuem espaços que podem ser utilizados para atividades que, cumprindo o propósito de promover os produtores, poderiam não estar diretamente relacionadas com o vinho. Concertos, peças de teatro, atividades de observação de aves, percursos pedestres, são algumas das atividades possíveis, podendo o preço estabelecido incluir uma prova dos vinhos da adega onde a atividade é desenvolvida.

3 - CONCLUSÃO

Como se constata, o enoturismo terá como objetivo fundamental a promoção do desenvolvimento regional numa perspetiva económica, social, cultural e ambiental, procurando também salvaguardar a paisagem e o património rural. Com a realização deste trabalho pretendeu-se contribuir para a elaboração de um projeto de dinamização da RVA, concorrendo assim para o incremento da sua eficácia, gestão e potencial de atração de mais turistas para a região, e enoturistas, em particular. A aplicação da análise SWOT revelou-se uma ferramenta muito simples e eficaz na análise da realidade da RVA e suportou a construção de um plano de dinamização que será certamente útil e de fácil implementação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CORREIA L. (2005). As Rotas dos Vinhos em Portugal: Estudo de Caso da Rota do Vinho da Bairrada, Dissertação de Mestrado em Gestão e Desenvolvimento em Turismo, Departamento de Economia, Gestão e Engenharia Industrial, Universidade de Aveiro. p. 168.
- DELOITTE (2005). Vintur Project, European Enotourism Handbook.
- DIAS J. (s/d). O Enoturismo como factor de desenvolvimento e internacionalização de um território, Instituto dos Vinhos do Douro e do Porto, IP.
- GETZ D. (2000). Explore Wine Tourism: Management, Development & Destinations. New York: Cognizant Communication Corporation.
- IAPMEI (s/d). Gerir Guias práticos de suporte à gestão, A análise SWOT. [Acesso em Janeiro de 2012], disponível em: http://www.iapmei.pt/iapmei-art-03.php?id=2344
- LINDON D. et al., (2004). Mercator XXI. Teoria e prática do Marketing. 10ª Ed. Editora Dom Quixote. Lisboa. p. 701.
- NOVAIS C., ANTUNES J. (2009). O contributo do Enoturismo para o desenvolvimento regional: o caso das Rotas dos Vinhos. 1º Congresso de Desenvolvimento Regional de Cabo Verde. 15º Congresso da APDR. 2º Congresso Lusófono de Ciência Regional. 3º Congresso de Gestão e Conservação da Natureza. Pp. 1253-1280.
- SIMÕES O. (2008). Enoturismo em Portugal: as Rotas de Vinho. Pasos, *Revista de Enoturismo y Patrimonio Cultural*. Special Issue, 6(2): 269-279.

LINKING INTERNATIONAL TRADE AND ENVIRONMENTAL SUSTAINABILITY, DIFFERENTIATION OF WINE BRANDS AND COMPANIES IN EXTERNAL MARKETS

Mário AGOSTINHO1; Nuno VILELA1; Orlando RAMOS1

ABSTRACT

With the retraction verified in Europe, especially in Southern European, internal markets such as Portugal, the wine sector is increasingly dependent on their exports to growth. In this highly competitive sector, tools to differentiate companies and brands are often a requirement to penetrate new markets. This study crossed data from European Union public opinion surveys and international trade of wine. When verifying the Willingness to Pay (WTP) of the European consumers for products of environmental friendly companies, we verified that there is a positive correlation of about 50% between WTP and the European wine importers ranking (Spearman R=0,496; p<0,01) supporting that communication of an environmental friendly conduct may be a viable tool for positive market differentiation within European Union (EU). Furthermore, other Business Intelligence indicates that the willingness to pay on rapid developing economies may be greater than in EU. Examples of environmental marketing options, good practices and a case study are also discussed.

KeyWords: International Trade; Environmental Sustainability; Wine Sector; Green Marketing; Biodiversity;

1 - INTRODUCTION

The European Wine Market is the biggest worldwide, along with the United States, Canada and China, and concomitantly has a huge importance for its internal economies (UNCTAD, 2010). With the recent bailout/austerity and reciprocal contraction of the Southern European economies (e.g. Portugal, Spain and Italy), several wine producing companies in these economies found exports as the only way to keep growing, or simply to keep in business. In this highly competitive sector, where companies tackle with emerging Wine Regions, often competitive in price, as well as with established Wine Regions, product differentiation is a critical requirement to successfully penetrate in new markets

At least since the early 90s of the 20th century, business has identified a new consumer segment (or trait) with strong environmental awareness, the *green* consumer, therefore creating products and services suited to these consumer needs and expectations (Jay 1990; Laroche M *et al* 2001; Barber *et al*. 2009). Targeting consumers who are willing to pay more for environmental friendly "signals" may therefore constitute an important differentiation method in external markets, benefiting fragile economies, while at the same time benefiting the environment and planet sustainability (Conrad 2005). There are innate synergies and opportunities between the environment and the agricultural sector in general, and with viticulture in particular, since it can also rely on Touristic income

Business intelligence methodologies to evaluate the market share and return of those environmental friendly products and companies also emerged. These are either focused on a restricted geographic area and product, or broad estimates by country, not product specific, usually representing the biggest World or Regional economies. They also usually rely on survey based, either face-to-face or on the Internet, where consumer expresses its Willingness to Pay (WTP) (e.g. Loureiro 2003; Eurobarometer 2010; Cohn & Wolfe, Landor Associates, and Penn Schoen Berland. 2011), or choice experiments (e.g. Loureiro *et al* 2002).

By integrating data on Europeans WTP and international trade of wine it is addressed market opportunities for environmentally friendly companies and their products on a regional scale, the European Union Wine Market. It is also presented the case study of Duorum Vinhos, S.A., as an off-the-shelf company valuation based on its Environmental Policy marketing.

2 - DATA COLLECTION AND TREATMENT

Data on consumer Willingness to Pay (WTP) was gathered by TNS Opinion & Social for the European Commission Eurobarometer in the Special Report n° 357- *International Trade*, 2010. In the previous barometer interviews were conducted in September 2010, face-to-face in people's homes and in the appropriate national language. Among other International Trade related questions, the surveyed were asked to answer the following questions: "Would you be prepared to pay more for products or services from companies

which respect the Environment?", if so, "How much more would you be Willing to Pay?" (Eurobarometer Special Report 357 TNS Opinion & Social 2010).

Data from the International Trade of Wine products was gathered from United Nations Commodities Trade Database HS6 (United Nations, 2010) for the year 2010. The Harmonized Code for products was the 220421 - wine of fresh grapes, including fortified wines, and grape must whose fermentation has been arrested by the addition of alcohol, in containers of ≤ 2 litres (excluding sparkling wine). Dollar to Euro exchange rate was 0.7752. Although data used for this analysis is more than two years old, neither the cultural nor the importing patterns are expected to change much in such a short time-frame. Furthermore, data on international trade may take a couple of years to get fully updated. Since data for Product Imports was not normally distributed (tested through the Shapiro–Wilk test for normally distributed populations), significant Spearman's Order Rank Correlations (ρ) were tested (through t distributions) and computed using Statsoft® Statistica 7. The measurement of each country potential was obtained by multiplying the respondents WTP by the Wine imports of the given country.

3 - RESULTS

There was a significant (p < 0.01) moderate correlation of about 50% (ρ = 0,496) between the biggest wine products importers ranking in the EU and the respondents Willingness to Pay for products of Environmental Friendly companies (Figure 1).

The country in which there was an higher predisposition to buy products from Environmental Friendly companies at a price premium in Europe was Sweden, with 82% of the respondents answering YES, about twice the EU average of 46%. Imports of wine products in Sweden were 297.205.647 $\[mathebox{\ensuremath{\ensuremath{\mathbb{C}}}\ensuremath{\ensuremath{\mathbb{C}}\ensuremath{\ensuremath{\ensuremath{\mathbb{C}}\ensuremath{\ensuremath{\mathbb{C}}\ensuremath{\$

promising countries for an eco-friendly company to introduce a wine to earn a market share, that is, with the best relationship Importing - Willingness to Pay, were United Kingdom, Deutschland, Netherlands, Belgium, Denmark, Sweden, and France respectively (Figure 2). The United Kingdom *Environmental Friendly* market has about the same potential (assuming only a market share, without *price premim*) as the whole German wine market, nevertheless both are relevant for their size whilst Netherlands, Denmark and Sweden are relevant because of its population high WTP for products coming from sustainable companies.

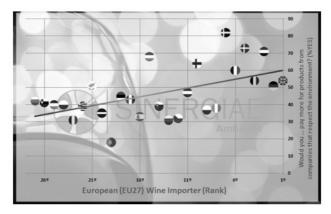


Figure 1 – Scatterplot represented by flags, and tendency line (linear fit) for the correlation between Wine Importers and consumer Willingness to Pay for products from Environmental Friendly companies.

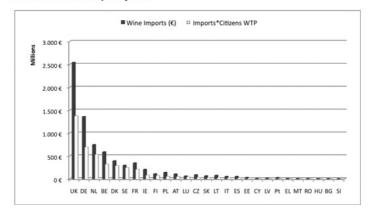


Figure 2- EU countries wine imports (black bars) and the Weighting of Environmentally Friendly Markets (given by wine imports and the WTP respondents (grey bars)).

4 - DISCUSSION AND CONCLUSIONS

4.1 -Assessing Environmental Friendliness on a Regional Scale

The present assessment was a simple and fast to way to assess WTP for environmental companies and their products on a broad regional scale, novel, since it takes into account the international trade for a given commodity. Integrating international trade data with eco-friendlier consumerism became useful, it allowed identifying Sweden as a more priority market than France, which imports more (although the difference is small). It also denoted the potential of not as much Environmental Friendly markets, mainly due to their size (e.g. United Kingdom and Germany). Furthermore, future assessments may be applied to virtually any commodity that has available data, therefore serving as a "front line" *green market* prospection tool, allowing focused Marketing. Citizens are known to have different environmental perspectives and concerns, French seem more worried about Water Pollution, Germans about Climate Change, and Swedish express their biggest concern on Biodiversity related issues (National Geographic & Globe Scan 2010), implying different consumer approaches in target countries.

The presented assessment has however several limitations which shouldn't be neglected. Firstly, to perform surveying on such a broader scale it is very expensive to keep up to date market intelligence. Secondly, respondents may be biased towards "what is right to do". Intentions which may ultimately not be reflected on the buying decision (behaviour) due to several other factors (Rex & Baumann H 2007 and references within). Thirdly, it is not product specific, ignoring consumer perspectives and intrinsic proprieties of specific products. For example, this can be reflected on current expressed WTP, "green" retail price premiums and market shares over different product categories, which may vary substantially (Shen 2008; Centre for Retail Research 2010; Cohn & Wolfe, Landor Associates, and Penn Schoen Berland 2011). Forth, surveying methods based on questioners (Contingent Valuation Methods) may not be the most representative tool to address the environmental friendliness of the consumer, especially when they do focus the entire population and not the real consumer (Loureiro *et al* 2002; Barnard & Mitra 2010).

In short, main targets for greener wine producers were identified, however the results obtained here should be treated with caution as more robust and precise methodologies

are deployed in target countries to access market shares and revenue for greener companies.

4.2- Implications for the Wine Sector

The current study allowed the detection of an Environmentally Friendliness request within EU citizens, especially on those of the biggest wine importer countries, implying that tendentiously, investing in Environmental Friendliness signals towards the consumer is advantageous for wine companies wishing to market their wines in EU. Furthermore, other business intelligence that surveyed some European countries together with developing economies, such as Brazil and China, show that expressed price premiums in these two economies are greater than those in EU (GSMD & Ebeltoft. 2010; Cohn & Wolfe, Landor Associates, and Penn Schoen Berland. 2011).

Product Ecolabeling is a means of reducing the information gap between consumers and producers, and therefore the most direct way to communicate their work. For the Wine Sector there are no specific standards in European Union, besides Organic Certification. Not sector specific there is the Carbon Footprinting of wine or the EU-Ecolabel for touristic accommodations. There are other options such has joining Initiatives (European Initiative on Business & Biodiversity), construct partnerships with ONGs, or self-declarations. The best approach should take into account the target markets, consumer information, their scepticism and saturation (Barber et al 2009; Cohn & Wolfe, Landor Associates, and Penn Schoen Berland. 2011). But, is the going green strategy a viable for all producers? One cannot expect that Eco-friendliness is the main or only concern for all respondents when compared to Price and Quality/Origin (Steiner B, 2000). Although applied to the United States, Loureiro 2003 and Delmas & Grant 2008, found that the green strategy may not be suited to perceived low quality wine brands/Wine Regions. The authors also claimed a negative connotation and unfamiliarity with organic wines. Regarding EU, this may be also true because low quality wines tend to have lower prices, and price-oriented consumers seem to have fewer environmental expectations for their products, in contrast with quality oriented consumers (Schumacher 2010). Nevertheless, green retail increase in Europe is expected to go on and price premiums are expected to decrease, becoming more affordable (Centre for Retail Research 2010) demonstrating that industry and/or marketing is gradually adapting to this latent consumer need. It is advocated that if wine industry and Wine Regions can adapt to the quality and price standards consumers are willing to pay, a *greener* wine industry/production may result in a positive differentiation for their wines.

4.3- Case Study: Duorum Wines SA Approach To Environmental Marketing

The peculiar *terroir* of Douro Superior, in the Portuguese Douro Wine Region, attracted José Maria Soares Franco and João Portugal Ramos to produce high quality wines on that location. The fact that those lands are inhabited by also peculiar, rare and protected bird species could have been a nuisance, instead, was in fact a great opportunity to consolidate a serious Environmental and Biodiversity Policy. Besides the intrinsically advantages of Sustainable Agricultural practices (erosion and risk control, pesticide reduction, etc.) it also became a marketing tool. Biodiversity protection provided a huge brand exposure after Duorum decided to integrate the European Business & Biodiversity Initiative and got the attention of Newspapers (*Expresso*), TV shows (RTP1, *Porto Canal*), several events and awards, such as Viticulture of the year 2012, by the leading Wine Sector magazine, *Revista de Vinhos*. Such brand exposure would have required a huge amount of financial resources to achieve. Duorum also decided to communicate that effort on their wine labels. The marketing approach does not rely only on Environmental Friendly signals, but also signals the consumer for uniqueness, aiming to create consumer involvement.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barber N, Taylor C, Strick S. 2009. International Journal of Wine Research 1: 59-72

Barnard E, Mitra A. 2010. Proceedings of the Academy for Economics and Economic Education 13(2): 5–10

Cohn & Wolfe, Landor Associates and Penn Schoen Berland. 2011. Image Power Green Brands Survey.

Conrad K. 2005. Environmental & Resource Economics 31: 1-19

Centre for Retail Research. 2010. Green Retail Trends in Europe

Delmas & Grant 2008. ISBER Publications, Santa Barbara, USA

TNS Opinion & Social. 2010. Eurobarometer Special Report 357- International Trade. *European Commission*. Available on URL:

http://ec.europa.eu/public opinion/archives/ebs/ebs 357 en.pdf

Jay L. 1990. Management Review 79:24-29

Loureiro M, Mccluskey J, Mittelhammer R. 2002. Journal of Consumer Affairs 36:203-219

Loureiro M. 2003. Food Policy 28: 547-560

National Geographic & Globe Scan. 2010. Greendex. Available on URL: http://environment.nationalgeographic.com/environment/greendex/2010-survey/

Rex E, Baumann H. 2007. Journal of Cleaner Production 15: 567-576

Schumacher I. 2010. Ecological Economics 69: 2202–2212

Steiner B, 2000. Actes et Communications 17 (1): 100-115.

Shen J. 2008. OSIPP Discussion Paper DP-2008-E-001

United Nations. 2010. Commodities Trade Database HS6. Avaiable on:

URL http://data.un.org/Explorer.aspx?d=ComTrade&f=_11Code%3a1

















