

# Compatibilidade da enxertia em videira. Deteção precoce através da análise de compostos fenólicos

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

A enxertia é uma técnica milenar amplamente utilizada em viticultura, cuja expansão nos países do velho mundo vitivinícola remonta ao final do século XIX. Com efeito, com a devastação quase total da vinha na Europa causada pela filoxera<sup>(1)</sup> a partir de 1860, compreendeu-se que as espécies americanas de videira eram resistentes a esta praga e, por conseguinte, começaram a ser utilizadas como porta-enxertos das variedades/castas de videira europeia - *Vitis vinifera*. Com esta prática é possível obter resistência a pragas e doenças transmitidas através do solo, bem como tolerância a certas condições desfavoráveis (como a elevada salinidade, a secura e o excesso de acidez do solo, entre outras), para além de ser assegurada a propagação, um maior rendimento produtivo e o controlo do vigor da videira (Lee et al., 2010).

## O ciclo de enxertia

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

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

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

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

## Falta de compatibilidade da enxertia: um problema por resolver

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

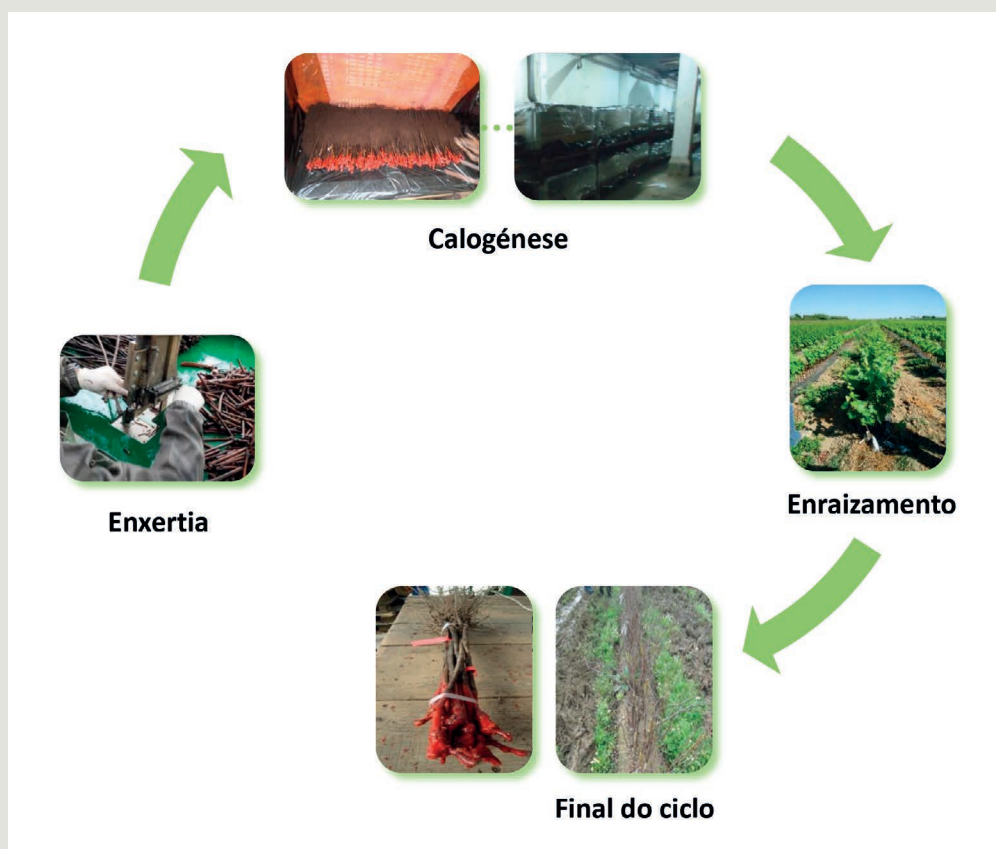
Sara Canas<sup>(1,2)</sup>, Maria Assunção<sup>(1,3)</sup>, Sara Cruz<sup>(1)</sup>, João Brazão<sup>(1)</sup>, José Eduardo Eiras Dias<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> INIAV, I.P.



<sup>(2)</sup> ICAAM - Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Universidade de Évora

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



**Figura 1** - Principais fases do processo de produção de enxertos prontos

<sup>(1)</sup> A filoxera (*Dactylosphaera vitifoliae*) é um inseto da ordem dos hemipteros. Também se dá o nome de filoxera à infecção da videira provocada por este inseto, que ataca as raízes da planta.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### Estratégia de investigação

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

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

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

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



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

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

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

### Resultados promissores

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

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

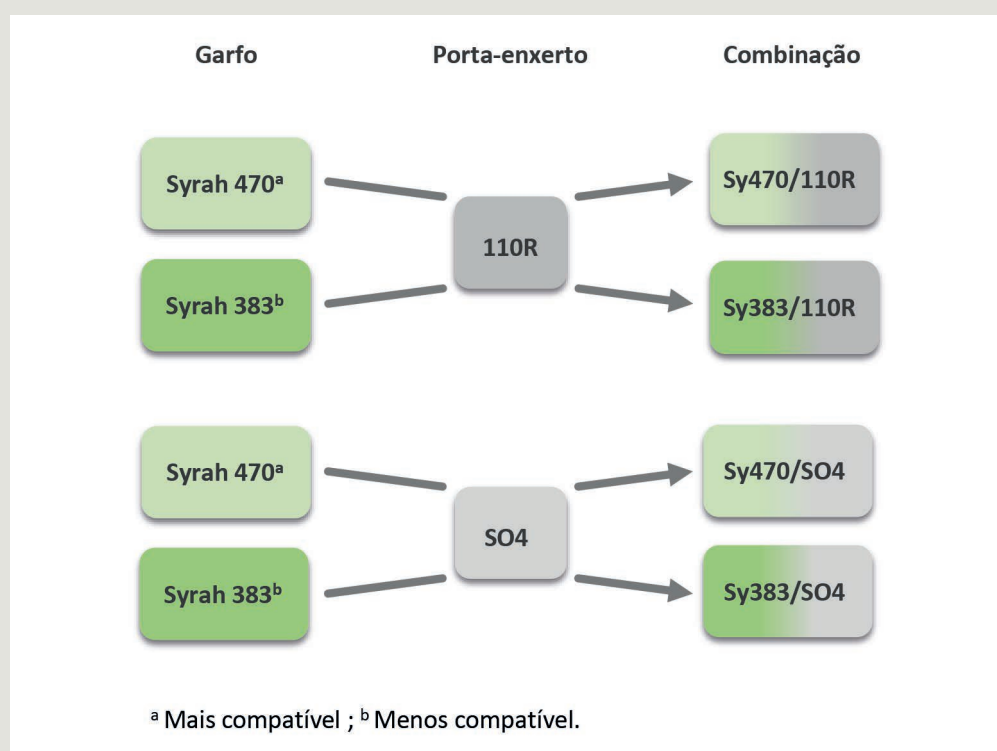


Figura 3 – Combinações garfo/porta-enxerto estudadas

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

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

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

### Agradecimentos

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

### Bibliografia

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

QUADRO 1 – CONCENTRAÇÃO MÉDIA DE COMPOSTOS FENÓLICOS (mg/L) EM FUNÇÃO DA FASE DO CICLO DE ENXERTIA, DA COMBINAÇÃO GARFO/PORTA-ENXERTO E DA SECÇÃO

		Ácido gálico	Ácido ferúlico	Ácido cafeico	Ácido sinápico	Ácido clorogénico	Catequina	Epicatequina
Fase do ciclo	Calogénese	0,86 b	0,22 a	0,54 b	6,48 a	0,04 a	21,55 c	5,09 b
	Enraizamento	1,01 c	0,35 b	0,57 b	11,75 b	0,25 b	19,11 b	4,31 a
	Final do ciclo	0,27 a	0,24 a	0,08 a	38,96 c	0,59 c	8,43 a	4,29 a
Combinação	Sy470/110R	0,88 b	0,36 b	0,42 b	21,43 b	0,12 a	15,05 a	4,35 ab
	Sy383/110R	1,03 c	0,24 a	0,34 a	19,10 ab	0,48 c	16,77 b	4,65 b
	Sy470/SO4	0,44 a	0,24 a	0,47 b	20,79 b	0,35 b	16,97 b	5,16 c
	Sy383/SO4	0,50 a	0,23 a	0,36 a	14,94 a	0,22 a	16,65 b	4,08 a
Secção	Acima da união	0,22 a	0,33 b	0,41 b	24,61 b	0,20 a	16,17	6,26 c
	União do enxerto	1,02 c	0,30 b	0,49 b	22,76 b	0,37 b	16,02	2,75 a
	Abaixo da união	0,89 b	0,17 a	0,29 a	9,82 a	0,31 b	16,89	4,67 b

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