AVANÇOS OBSERVADOS NA PROPAGAÇÃO DE VIDEIRAS NO MUNDO

DANIEL SANTOS GROHS, MARCUS ANDRÉ KURTZ ALMANÇA, THOR VINICIUS MARTINS FAJARDO, FRANÇOIS HALLEN, ALBERTO MIELE

RESUMO – A propagação de videiras a partir dos métodos clássicos de enxertia e em escala comercial teve origem há mais de 130 anos. Este sistema permaneceu artesanal até meados da década de 1950, quando se iniciaram os primeiros programas internacionais de certificação com foco na obtenção de plantas básicas com elevada sanidade para vírus. No fim da década de 1960, surgiu a necessidade de aumentar a escala para produção em um modelo industrial em que a muda apresentasse um padrão morfológico mínimo. Ao longo da década de 1970, aprofundaram-se as pesquisas relacionadas à automatização da prática de enxertia, à higienização do processo, ao uso de reguladores de crescimento e ao entendimento dos eventos fisiológicos da compatibilidade entre enxerto e porta-enxerto, formação de calos e enraizamentos. Assim, até meados dos anos 2000, as esquemas de certificação e o processo de propagação pouco evoluíram em termos técnicos. Porém, na medida em que a área vitivinícola foi expandindo e a demanda por mudas aumentado, verificou-se que novas pragas se alastravam em escala global a partir de viveiros contaminados. Estas novas pragas (complexos virais, fitoplasmas, bactérias e fungos causadores de podridões vasculares) foram sendo descobertas à medida que os métodos de diagnóstico avançaram em sensibilidade de detecção. Hoje, surge nova discussão no segmento viveirista mundial fundamentada no fato de que o processo de propagação está sendo revisto sob o foco da redução de incidência das novas pragas e mínimo dano à muda ao longo das etapas da produção. Surgem, assim, inovações tecnológicas, tanto em equipamentos quanto em práticas e insumos, sendo incorporadas aos novos modelos de certificação. Mas, se por um lado, estes esquemas tornam-se cada vez mais multidisciplinares, por outro, a complexidade gerada pode trazer dificuldades para a adesão pelos viveiristas.

Termos para indexação: enxertia, viveiro, certificação, mudas de videira.

ADVANCES OF THE GRAPEVINE NURSERY PRODUCTION IN THE WORLD

ABSTRACT - The grapevine propagation by classical methods and in commercial scale emerged over 130 years. This system remained handmade until the mid-1950s, when started the international certification of clean stock programs for mother plant obtaining with high viral sanity. At the end of 1960s appeared the necessity to increase the scale of production on industrial model and plant material production based on minimum morphological standards. Along the 1970s, the researches were detailed mainly related at: the semi-automated grafting, the hygiene of process, the use of plant growth regulators and aiming to understand of physiological events of rootstock-scion compatibility, callus formation and rooting. So, until the mid-2000s, certification schemes and propagation process advanced not so much in technical standard. However, the grapevine growing areas were expanded and demands for plant material were increased, and new diseases have emerged from contaminated nurseries. These new diseases (new viral complex, phytoplasma, bacteria and grapevine trunk diseases) were discovered by diagnostic methods with high sensitivity. Today, there is a new discussion in the nursery segment worldwide. The propagation has being reviewed from perspective of reducing the incidence of new diseases and minimum physiological damage of the nursery plants during the stages of production. Therefore, currently, has appeared technological innovations in equipment, practices and production inputs that were incorporated in new certification schemes. However, despite these advantages, usually these schemes are more complex and multidisciplinary than previous ones, then, bringing difficulties in adaptation of nurserymen.

Index terms: grafting, nursery, certification, grapevine nursery plant.
INTRODUÇÃO

O novo cenário da propagação de videiras

A história da vitivinicultura mundial está intimamente ligada à produção de materiais propagativos. A partir do fim do século XVII, a epidemia do pulgão de raiz, conhecido como filoxera (Daktulosphaira vitifoliae), alastrou-se pela Europa dizimando os vinhedos de variedades da espécie *Vitis vinifera* que, comumente, eram plantadas em pé-franco, ou seja, sem porta-enxerto (RILEY, 1891). Assim, iniciou-se a importação, dos Estados Unidos, de porta-enxertos por enxertia passou a fazer parte da vitivinicultura moderna (SPOERR, 1902). Inicialmente, o processo evoluiu na técnica, buscando maior rendimento em número de mudas viáveis, surgindo a automatização pela enxertia de mesa (ALLEY, 1957); o ajuste de tipos de parafina para enxertia; a aplicação da estratificação para formação de calos; o armazenamento do material propagativo a frio; o uso de reguladores do crescimento vegetal para formação de raízes e calos (ALLEY; PETERSON, 1977) e as medidas básicas de higienização do processo (BECKER; HILLER, 1977).

Em um segundo momento, o processo evoluiu na qualidade fitossanitária, na medida em que diversas doenças, especialmente as causadas por vírus, eram transmitidas às mudas a partir das plantas-matrizes. Foram fundadas, em diversos países vinícolas, as entidades oficiais responsáveis pela obtenção, limpeza e disponibilização de material básico certificado de alta qualidade fitossanitária para viveiristas (MARTELLI, 1999). Os esquemas de certificação normatizam protocolos de qualidade para obtenção de mudas, porém não existe um padrão unificado para estes esquemas. Alguns verificam a sanidade viral para os materiais produzidos nos estoques básicos. É o caso da *EPPO Certification*, que normatiza a certificação das culturas agrícolas na União Europeia e é aplicada em países como Alemanha, Portugal, Espanha e Itália (OEPP, 2008). Outros países apresentam programas mais amplos, com protocolos de verificações sanitárias e recomendações técnicas desde a produção do material nuclear até os viveiros comerciais. É o caso da *APFIP* na Austrália, *PPECP* no Canadá, *ENTAV-INRA* na França, *FPS* nos Estados Unidos e *Vine Improvement Scheme in terms of the Plant Improvement Act* na África do Sul. No Brasil, a aplicação do termo certificação em videira aguarda há anos por uma regulamentação oficial dos padrões técnicos de conformidade (DE ALMEIDA, 2002). O viveirista precisa apenas respeitar critérios legais mínimos para a comercialização da sua produção, não havendo nenhum tipo de controle oficial da qualidade fitossanitária do material comercializado (BRASIL, 2004).

Atualmente, independentemente se o esquema é certificado ou não, há um crescente movimento de transformação técnica do segmento viveirista em escala global. Embora grandes ganhos tenham sido obtidos com os atuais esquemas, há uma urgência em inová-los frente às novas ameaças fitossanitárias (FILO et al, 2013). Nos últimos anos, novas pragas foram introduzidas em matrizes e largamente disseminadas entre regiões produtoras a partir de materiais propagativos (GRAMAJE; DI MARCO, 2015). Estas pragas, por serem pouco consideradas nos atuais esquemas de certificação, geram um novo momento para o avanço das tecnologias de propagação de mudas de videira (FILO et al., 2013).

As novas pragas transmitidas pelo material propagativo

Tradicionalmente, o foco da qualidade fitossanitária de plantas-matrizes recai sobre a detecção de vírus. A videira e os híbridos utilizados como porta-enxertos são hospedeiros de cerca de 65 vírus, 8 viroides e 13 fitoplasmas. Esta relação aumenta com frequência devido ao contínuo desenvolvimento das técnicas para detecção desses patógenos, especialmente o sequenciamento de nova geração (NGS, “Next generation sequencing”) (MARTELLI, 2014; ROOSSINCK et al., 2015).

Dentre os diversos motivos pelos quais a videira é tão afetada por estes patógenos, mencionam-se: é inerentemente suscetível a vários patógenos; é cultivada em diferentes regiões geográficas e sob diferentes condições ambientais, e é propagada vegetativamente, sendo esse o principal modo de transmissão de vírus, viroides e fitoplasmas. Como consequência, a videira é capaz de adquirir, manter e acumular tais agentes infecciosos, perpetuando-os durante o ciclo da cultura. Além disso, alguns insetos e nematóides são eficientes vetores naturais de determinados vírus e fitoplasmas, tornando a situação ainda mais complexa. Apesar desse contexto, a videira mantém-se como uma das culturas de frutíferas mais importantes no mundo (FIORE, 2015).

As quatro principais viroses da videira no mundo são o enrolamento da folha (“*grapevine leafroll*”), o complexo do lenho rugoso (“*rugose wood complex*”), a degenerescência da videira...
("fanleaf degeneration") e a mancha das nervuras ("fleck disease"), pela importância econômica e pela incidência que apresentam em diversos países vitícolas (MARTELLI et al., 2007; MAREE et al., 2013; BASSO et al., 2014; NAIDU et al., 2015). Entretanto, recentemente, alguns novos vírus foram descobertos em videiras e rapidamente se tornaram conhecidos como "virus emergentes" pela expressão e pela relevância que já adquiriram no mundo (MARTELLI; SALDARELLI, 2015). Exemplos são o Grapevine Syrah virus-1 (GSyV-1), associado à virose do declínio da Syrah ("Syrah decline") (AL RWAHNIIH et al., 2009); o Grapevine red blotch-associated virus (GRBaV), causador da virose "manchas avermelhadas" ("red blotch disease") (SUDARSHANA et al., 2015); o Grapevine vein clearing virus (GVCV), causador da doença "clareamento das nervuras" ("vein-clearing") (ZHANG et al., 2011), e o Grapevine Pinot gris virus (GPGV), causador do "mosqueado clorótico e deformação foliar" ("chlorotic mottling and leaf deformation") (SALDARELLI et al., 2015).

No entanto, os critérios de qualidade fitossanitária em plantas-matrizes e mudas têm necessitado revisão em virtude do aumento da incidência do complexo de fungos causadores de doenças de tronco, causadores do declínio e da morte de vinhedos jovens (STAMP, 2001). Em levantamento realizado em 146 viveiros da Europa, Gramaje e Di Marco (2015) verificaram que, em 25%, era realizado o replanto de plantas-matrizes com menos de 10 anos de idade por ocorrência de declínio. Da mesma forma, Liminana et al. (2009) já haviam apontado que mesmo matrizes com aspecto externo saudável apresentavam lesões necróticas internas. Estas constatações são exemplos de que alguns destes fungos podem liberar esporos no ar, apresentando potencial de infecção através dos ferimentos que ocorrem nas plantas-matrizes (LARIGNON; DUBOS, 2000; ROONEY-LATHAM et al., 2005; GRAMAJE; ARMENGOL, 2011; BALOYI et al., 2013). Por isto, desde os anos 2000, um grupo de pesquisadores tem buscado remodelar o processo de produção de mudas com enfoco na proteção contra a infecção dos fungos causadores das doenças de tronco.

Os patógenos associados a este complexo têm como principais representantes: a Esca, causada por Phaeomoniella chlamydospora, Phaeaoxconium spp. e Fomitiopora spp.; a Doença de Petri, causada por Phaeomoniella chlamydospora e Phaeoaconium spp.; a Podridão descendente, causada por fungos Botryosphaeriaeaeceous; o Declínio de Eutypha, causado por Eutypha lata, e o Pé-preto, causado por Cylindrocarpon spp., Campylocarpon spp. e Dactylonectria e Hydroectria spp. (LARIGNON; DUBOS, 2000; VICENT et al., 2001; HALLEN et al., 2004; AROCA et al., 2006; HALLEN et al., 2006a; HALLEN et al., 2006b; MOSTERT et al., 2006; ZANZOTTO et al., 2007; REGO et al., 2009; ÜBEZ-TORRES et al., 2012; BERTSCH et al., 2013; BILLONES-BAAJENS et al., 2013; WHITEHALL-WECKERT et al., 2013; LOMBARD et al., 2014). Além destas espécies, novos gêneros têm sido continuamente relatados na literatura. Halleen et al. (2007), conduzindo estudos de patogenicidade em viveiros e vinhedos com plantas em declínio, verificaram que plantas sintomáticas estavam contaminadas por Cadophora luteo-olivacea, Phialemonium cf. curvatum e Pleurostomophora richardiae, enquanto Moyo et al. (2014) identificaram espécies de artrópodes transmissores de vírus e fitoplasmas também atuando na transmissão de doenças de tronco.

Além dos vírus e das doenças de tronco, outro grupo fitopatogênico que pode infectar plantas-matrizes e ser transmitido via material propagativo são as doenças bacterianas. No Brasil, há a ocorrência do cancro bacteriano causado por Xanthomonas campesstris pv. viticola. Sua ocorrência já foi relatada em Pernambuco, Bahia, Piauí, Ceará, Roraima e São Paulo (RODRIGUES NETO et al., 2011). A principal medida para o controle desta bactéria é evitar sua entrada em áreas onde a doença não ocorre e, se for o caso, eliminar o inóculo presente em plantas contaminadas (SILVA et al., 2012). Outra doença bacteriana é o Mal de Pierce, causada por Xylella fastidiosa, muito importante na videira em países como Estados Unidos, México, Costa Rica, Venezuela e Chile, causando perda de qualidade e quantidade da uva, além de morte de plantas. Os cuidados com esta doença devem ser no momento da introdução de materiais vegetativos de videira no País, sendo que as medidas legais devem ser seguidas (KUHN, 2006).

Avanços observados nos métodos de diagnose fitossanitária

A obtenção da planta-matriz é uma das etapas mais críticas no processo de produção de mudas. Sua condição sanitária definirá a qualidade da muda ao longo dos anos. O diagnóstico constitui etapa fundamental, juntamente com estudos epidemiológicos, para a implantação de controle efetivo de doenças causadas por vírus, viroides e, recentemente, fitoplasmas, bactérias e fungos relacionados às doenças de tronco. A observação dos sintomas a campo é o primeiro passo no
processo de checagem fitossanitária. No entanto, são comuns infecções latentes e a presença de sintomas inespecíficos, ou seja, sintomas comuns a várias doenças não necessariamente causados por um patógeno específico (FIORE, 2015).

No caso do diagnóstico dos vírus, viroides e fitoplasmas, as ferramentas têm evoluído ao longo dos anos, tendo começado pela indexação biológica, passando, posteriormente, pelos testes sorológicos e moleculares. A indexação biológica, pela transmissão mecânica do patógeno para hospedeiras herbáceas ou indexação por enxertia em indicadoras lenhosas, é a mais antiga técnica de diagnóstico utilizada, embora ainda seja importante, especialmente devido à alta sensibilidade que apresenta e em casos de novos vírus não conhecidos. Entretanto, a diagnose baseada em sorologia tem o ensaio de imunoadsorção com enzima ligada ao anticorpo (ELISA, “enzyme-linked immunosorbent assay”) como o teste mais utilizado. Outras técnicas baseiam-se na detecção dos ácidos nucleicos do patógeno, tais como a hibridização molecular (“molecular hybridization”) e a reação em cadeia da polimerase (PCR, “polymerase chain reaction”) com suas variantes do tipo “conventional”, em que o resultado é visualizado em gêis após eletroforese ou do tipo “tempo real ou quantitativo” (AL RWAHNIH et al., 2012; DUBIELA et al., 2013; OSMAN et al., 2013).

Mas é o diagnóstico molecular que tem avançado significativamente nos últimos anos. A restrição do emprego de determinado teste molecular reside no fato de ele ser direcionado apenas à detecção de patógenos com sequências de nucleotídeos conhecidas e para alguns patógenos que são alvos da reação. Isto impossibilita a detecção de patógenos com sequência de nucleotídeos desconhecidos ou que não são alvos preestabelecidos da detecção. Estas duas restrições são superadas quando se utiliza o sequenciamento de nova geração (NGS). Com esta técnica, é possível identificar todos os vírus, viroides e fitoplasmas presentes em uma amostra de tecido vegetal (AL RWAHNIH et al., 2015). Com o contínuo aperfeiçoamento desta técnica, há uma permanente ampliação do conhecimento acerca do viroma (população viral) presente em videiras (BURGER; MAREE, 2015). Assim, as informações geradas poderão ser utilizadas para a definição de melhores e mais eficientes estratégias de controle e manejo das viroses. Porém, o custo relativamente elevado ainda não permite a utilização da NGS como técnica rotineira. No entanto, é economicamente viável, por exemplo, quando comparado aos custos da indexação biológica (considerando-se, também, que, para alguns patógenos, há a necessidade de aguardar até dois anos para o resultado final) e considerando-se que os testes biológicos são necessários para incorporar matrizes selecionadas em programas de certificação. Em relação aos controles quarentenários, a técnica NGS também permite reduzir custos visando à introdução de um novo material genético em um país (GIAMPETRUZZI et al., 2015). Para a implementação desta nova técnica, é essencial contar com o apoio da área de bioinformática aliada ao laboratório executor, pois será necessário processar e analisar grande quantidade de sequências de nucleotídeos (WU et al., 2015).

Atualmente, a abordagem clássica da checagem fitossanitária da planta-matriz, baseada apenas na presença de vírus, vem sendo revista, na medida em que estudos comprovam que fungos causadores de doenças de tronco também são transmitidos às mudas através destas matrizes (GRAMAJE; ARMENGOL, 2011). Para a diagnose de fungos, a disponibilidade de ferramentas para detecção é o fator-chave e, nos últimos anos, é a área que mais tem avançado. Alguns fitopatógenos, como Plasmopara viticola, Botrytis cinerea e Elsinoe ampelina, são de fácil detecção, pois é possível a verificação de sintomas visuais típicos. Para as doenças de tronco, os sintomas não são tão evidentes, e a detecção em material propagativo assintomático pode ser fundamental. Atualmente, o método mais utilizado para a detecção é o isolamento em meio de cultura. É um método lento e que, geralmente, apresenta dificuldade para identificação. A diagnose molecular, como ferramenta mais rápida e eficiente, utilizando extração de DNA e ferramentas específicas, é uma alternativa. A PCR convencional, a nested-PCR e a real time-PCR estão sendo desenvolvidas para a identificação e a detecção dos agentes causais de Pê-preto, doença de Petri e espécies Botryosphaeriae, nos tecidos da planta, na água e em amostras de solo obtidas de viveiros e vinhedos. Em alguns casos, são desenhados iniciadores específicos para a identificação de uma ou poucas espécies (ALANIZ et al., 2009). Porém, em outros casos, tem-se buscado ferramentas que permitam a identificação simultânea do maior número possível de espécies. Weir e Graham (2009), utilizando t-RFLP, obtiveram sucesso na diferenciação de espécies de Cylindrocarpon, Eutypa, Botryosphaeria, Phaeoacremonium. É importante ressaltar que estas técnicas também requerem cuidados. Inibidores da PCR podem estar presentes nas amostras, principalmente em tecidos lignificados, limitando o uso do método (GRAMAJE; ARMENGOL, 2011). Lummerzheim et al. (2009), ao testarem multiplex-
PCR, a partir de DNA extraído de fungos, para a identificação simultânea de *Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia seriata*, *Phaeacronomium aleophilum* e *Phaeomoniella chlamydospora*, não obtiveram resultados conclusivos.

**Avanços observados no manejo das novas pragas**

As medidas de controle de vírus, viroides e fitoplasmas no processo de produção de mudas são baseadas exclusivamente na prevenção da infecção. É recomendada a utilização de material propagativo básico, livre das principais doenças, e que, preferencialmente, seja proveniente de um programa de seleção clonal e fitossanitária que inclua a limpeza clonal por termoterapia e/ou cultura de meristema (MALIOGKA et al., 2009). Atualmente, o Brasil ainda não possui um sistema oficial de certificação de mudas de videira (BRASIL, 2004) semelhante ao que vigora em alguns países da União Europeia (Itália, França, etc.), bem como em países como EUA, Argentina, Chile e África do Sul. Estes países possuem normas oficiais de certificação definindo níveis de tolerância para a presença de patógenos, especialmente os vírus, em mudas de videira, de acordo com categorias (MALIOGKA et al., 2015).

Outra opção, ainda não disponível comercialmente para a videira, é a utilização de plantas cuja resistência tenha sido incorporada como resultado de transformação genética, considerando-se a ausência de fontes de resistência genética natural a vírus em videiras (LAIMER et al., 2009; OLIVER; FUCHS, 2011). Além disso, o controle de vetores (nematoides, cochinilhas farinhentas – *Pseudococcidae*, etc.) e plantas daninhas (hospedeiras alternativas de patógenos e vetores) contribui para diminuir a disseminação de vírus, viroides e fitoplasmas, juntamente com a adoção de medidas quarentenárias eficazes que visem a impedir a introdução de patógenos ainda não presentes em um país ou que se encontrem restritos a regiões delimitadas de seu território (TSAI et al., 2010; ALMEIDA et al., 2013).

No caso dos fungos relacionados a doenças de tronco, a forma de controle preconizada é sistêmica a todo processo de produção da muda com pontos críticos de possíveis fontes de inóculo. Assim, no manejo do jardim clonal, tem-se enfatizado a necessidade de proteção dos ferimentos causados nas plantas após a poda de coleta do material propagativo (VAN NIEKERK et al., 2011). A suscetibilidade destes ferimentos às doenças de tronco varia de 4 até mais de 4 meses, dependendo do patógeno, da cultivar, da região e das condições climáticas (SERRA et al., 2008). Atualmente, é unânime a recomendação de proteção do ferimento com fungicidas químicos ou biológicos (DI MARCO et al., 2004; FOURIE; HALLEEN, 2006; HALLEEN et al., 2010). Mutawila et al. (2016a) recomendam a aplicação de *Trichoderma* após 6 horas do término da exsudação de seiva dos cortes, e Kotze et al. (2011) observaram que o uso de *Trichoderma* mostrou melhores resultados que o uso de produtos químicos. Mutawila et al. (2016b) verificaram que o componente 6-pentyl-a-pyrones (6PP), produzido por *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma atroviride*, mostrou-se inibidor dos patógenos de tronco. Também, a limpeza de ferramentas é outra prática que reduz significativamente a infecção de fitopatógenos na planta-matriz. Agusti-Brisach et al. (2011) observaram que a transmissão de *Phaeomoniella chlamydospora*, *Cadophora luteo-olivacea*, *Diplodia seriata*, *Eutypa lata* e *Phaeacronomium aleophilum* diminuiu após a desinfecção dos instrumentos de poda.

Após a entrada do material propagativo no viveiro, há uma série de práticas que são executadas. A hidratação do material vegetal é uma prática amplamente preconizada (WAITE et al., 2015). Porém, Gramaje e Di Marco (2015), em levantamento realizado em 146 viveiros da Europa, apontaram que esta hidratação era feita prioritariamente antes do armazenamento em câmara fria, mas que o tempo de hidratação era variável, entre uma hora e mais de 24 horas. Diferentes espécies de fungos de tronco têm sido detectadas nesta água, sendo que a contaminação pode ser oriunda do próprio material vegetativo, que traz o inóculo do campo, ou pela falta de higienização dos tanques (RETIEF et al., 2006; AROCA et al., 2010; AGUSTI-BRISACH et al., 2011; WAITE et al., 2013). Gramaje e Di Marco (2015) também observaram que o uso de produtos químicos na hidratação variava entre viveiros. Quando usados, eram fungicidas à base de iprodiona e de sulfato de 8-hidroxiquinolina ou biocidas à base de dióxido de cloro.

O local de produção da muda, quando não desinfetado, tem relação com a infecção por fungos. Na câmara fria, onde as temperaturas variam de 2ºC a 6ºC e umidade em torno de 90%, há o ambiente ideal para o desenvolvimento dos fungos adaptados a condições mais frias, como *Penicillium* spp. (GRAMAJE; ARMÊNGOL, 2011). Na esterilização, as temperaturas mais elevadas (27ºC a 29ºC) e a umidade acima de 90% favorecem o desenvolvimento de *Botrytis cinerea*. Em levantamento feito por Aroca et al. (2010), foram encontrados propágulos

O enraizamento é a última etapa do processo de produção da muda. Quando a campo, uma prática realizada em certas regiões é o aterramento do ponto de enxertia para sua proteção contra frio intenso ou manutenção da umidade do enxerto. Porém, isto pode aumentar drasticamente a incidência de fungos como *Cylindrocarpon* spp. (HALLEEN et al., 2003; FOURIE; HALLEEN, 2006). Também, o plantio de estacas com formação incompleta do calo basal de cicatrização expõe os tecidos do xilema à colonização por fungos existentes nos canteiros de enraizamento, especialmente o Pé-preto (HALLEEN et al., 2003; DÍAZ et al., 2009). O manejo da irrigação por aspersão, utilizada na produção de mudas por enxertia de mesa para aumento da soldadura da enxertia, pode favorecer a liberação de esporos de fungos causadores de doenças do tronco, além de outras doenças de parte aérea (GRAMAJE; DI MARCO, 2015). Já no controle de espécies invasoras, Agusit-Brisac et al. (2011) observaram que diversas espécies de vegetais se mostraram potenciais hospedeiras de fungos das doenças do tronco, como Pé-preto e Doença de Petri.

Finalmente, a qualidade fitossanitária da muda, de modo geral, é representada por sua conformidade morfológica no momento da comercialização. Segundo Díaz et al. (2009), processos deficientes que incluem inibição da formação do calo basal, diminuição da emissão de raízes, má-formação do calo de enxertia, faltas de enxerto e sintomas de incompatibilidade determinam mudas altamente suscetíveis a diversos fungos no futuro vinhedo.

Quanto ao uso de fungicidas ao longo da produção da muda, apesar de amplamente difundido, sua utilização no manejo das doenças de tronco é recente. Dentre os fungicidas químicos relatados na literatura, aqueles mais utilizados em viveiros no mundo são: sulfato de 8-hidroxiquinolina, tiofanato-metílico, captan, mancozebe, tiam, benomil e cloreto de didecildimetilmônio (FOURIE; HALLEEN, 2006). Porém, o desempenho de cada produto depende da forma de uso no processo. Por exemplo, para o controle de fungos Botryosphaeriaceae, dos fungos causadores do Pé-preto e da Doença de Petri, carbendazim e tiofanato-metílico apresentam potencial para a redução das infecções nos canteiros de enraizamento (FOURIE; HALLEEN, 2006; REGO et al., 2006; GRAMAJE et al., 2009; ALANIZ et al., 2011; BILLONES-BAAIJENS et al., 2013). A utilização de tiofanato-metílico e tiam é eficiente para a redução das infecções por *Phaeomoniella chlamydospora* e *Phaeacremionium minimum*, quando utilizados em diferentes estádios de hidratação da muda (KUN; KOCSIS, 2014).

Porém, é a utilização de agentes de controle biológico para a diminuição das doenças de tronco que mais tem aumentado nos últimos anos (GRAMAJE; DI MARCO, 2015). Espécies de *Trichoderma* têm sido utilizadas para a redução da incidência de *Phaeomoniella chlamydospora*, *Phaeacremionium* spp., *Exypta lata*, *Phomopsis viticola*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Neofusicoccum austral*, *Neofusicoccum parvum* e *Diplodia seriata* (KOTZE et al., 2011; MUTAWILA et al., 2011). Este agente de controle é utilizado no processo de imersão de estacas inteiras, raízes, extremidades basais das estacas e mudas inteiras (FOURIE; HALLEEN, 2006; DI MARCO; OSTI, 2007; MOUNIER et al., 2014). Pertot et al. (2016) testaram a utilização de *Trichoderma atroviride* em diferentes etapas do processo de enxertia. Os melhores resultados foram obtidos nas etapas de hidratação pré-armazenamento, estratificação e pré-plantio. Fourie e Hallen (2002) aplicaram o *Trichoderma harzianum* durante 5 segundos antes da enxertia, após a enxertia e mensalmente, durante o enraizamento, obtendo 41,7% a mais de massa radicular. Outra opção atualmente estudada é a combinação de fungicidas químicos (efecto de curto prazo) com biológicos (longo prazo). Mutawila et al. (2015) geraram mutantes de *Trichoderma atroviride* resistentes ao benzimidazol através do uso de radiação gama. Quando testados a campo estes mutantes obtiveram êxito na proteção contra *Phaeomoniella chlamydospora*. Outro grupo de microrganismos que está sendo testado são os fungos micorrízicos. Raízes de mudas de videira inoculadas com *Glomus intraradices* apresentaram menor número de lesões nas raízes e menor severidade por fungos causadores de Pé-preto (PETTI; GUBLER, 2006). Da mesma forma, Jones et al. (2014) observaram que a inoculação de *Acaulospora laevis* e *Funneliformis mosseae* diminuiu a suscetibilidade de três porta-enxertos de videira a *Linyophylla* spp.

Outra prática fitossanitária validada nos últimos anos, é o tratamento com água quente (TAQ)
para o controle de fungos das doenças de tronco (FOURIE; HALLEEN, 2006; WAITE; MORTON, 2007; GRAMAJE et al., 2009). Basicamente, o TÁQ é realizado em dois períodos: antes da enxertia (FOURIE; HALLEEN, 2004a) e após o arranque das mudas do viveiro, e antes do plantio no vinhedo (HALLEEN et al., 2007). Gramaje et al. (2009) observaram que o crescimento micelial de isolados de Cylindrocarpon luteo-olivaceae foi inviabilizado de 50°C até 54°C por 30 min, mas isolados de Cylindrocarpon lirioidendri e Cylindrocarpon macrodidymum já foram inviabilizados de 43°C a 47°C. Por outro lado, em determinadas situações, o material tratado poderá apresentar falhas na brotação, na formação de raízes e no selamento do ponto de enxertia, em função de dano fisiológico por alta temperatura (GRAMAJE et al., 2009; WAITE; MORTON, 2007). Por exemplo, na Espanha, tem sido utilizado protocolo de 53°C por 30 minutos, entretanto estas temperaturas provocaram danos na brotação de cultivares tradicionais de videira utilizadas na Nova Zelândia (GRAHAM, 2007; BILLONES-BAAIJENS et al., 2015). Esta variabilidade de recomendações e o fato de o tratamento não apresentar eficiência contra 100% de fungos (GRAMAJE et al., 2010) têm feito com que o uso da tecnologia não seja amplo e popularizado.

Avanços observados na fisiologia da propagação

O conhecimento dos efeitos fisiológicos envolvido na propagação da videira, como o balanço hormonal nos eventos da enxertia, já foi explorado e revisado (ALONI et al., 2010). Porém, têm sido aprofundados os estudos relacionados ao entendimento bioquímico e molecular por trás de diferentes etapas da técnica em interação com o ambiente de produção. Por exemplo, a superação da incompatibilidade entre porta-enxerto e enxerto é derivada do entendimento dos eventos citológicos que envolvem a formação das conexões vasculares e dos plasmodesmas durante a enxertia (PINA; ERREA, 2005). Da mesma forma, Cookson et al. (2013) caracterizaram em nível molecular a sequência dos eventos de sinalização hormonal relacionada à união porta-enxerto e enxerto, observando que a expressão desta sinalização é diferenciada no tempo e especifica para o porta-enxerto, o enxerto e a interface de enxertia.

Estes avanços têm permitido entender como as etapas de produção da muda estão intimamente relacionadas ao longo de todo o processo, não podendo ser mais consideradas isoladamente. Todik et al. (2005), ao monitorarem o balanço hormonal entre auxina e citocínina ao longo da enxertia, verificaram efeitos positivos no uso de paclobutrazol e de chlormequat ainda na fase de crescimento vegetativo das plantas-matrizes, aumentando o número de mudas de primeira classe após a estratificação. Analisando a relação entre o Zn e a síntese de auxina ao longo da enxertia, Somkuwar et al. (2013) aumentaram a uniformidade e a quantidade de raízes após a adição do micronutriente em plantas-matrizes de porta-enxertos. Outro avanço derivado do entendimento das interações é a associação ou o refinamento de técnicas já consolidadas, buscando maximizar os resultados que seriam obtidos isoladamente. Gökbayrk et al. (2010) obtiveram grande quantidade de raízes em porta-enxertos de 41B, após 24 horas de imersão em água seguida de aplicação exógena de AIB, por 20 segundos, antes do plantio. Corbean et al. (2009), ao compararem diferentes hormônios acrescidos à parafina de enxertia, obtiveram 91% de enxertos em 12 dias de estratificação com o uso de 8-quinoalolinol, e Dobrei et al. (2013) reduziram a mortalidade de mudas a partir do manejo diferenciado da temperatura de estratificação (redução gradual de 28°C para 26°C).

A quantificação do dano causado pelo ambiente (especialmente o clima) e pelo processo sobre o material propagativo também tem influenciado na definição de técnicas mais específicas (HUNTER et al., 2003). São cada vez mais comuns os trabalhos que relacionam o dano ao material vegetal, desde sua origem, com a perda de vigor fisiológico ao longo do processo. Atualmente, tem-se relacionado a perda de vigor fisiológico com o aumento do fenômeno da “enxertia anormal” (HUNTER et al., 2013). Este fenômeno tem seus sintomas iniciais, ainda no viveiro, com o típico engrossamento do enxerto (GARDIMAN et al., 2007). Porém, a morte da planta, em geral, só ocorre no vinhedo depois do plantio. Desta forma, uma série de estudos dos indicadores de qualidade fisiológica foi aprofundada nos últimos anos (HUNTER et al., 2003), tais como: acúmulo de carboidratos, substâncias fenólicas, componentes nitrogenados e enzimas anti-oxidantes. Estes indicadores são utilizados para o monitoramento do transporte de nutrientes e água (BAVARESCO; LOVISOLO, 2000) ou patógenos (GAMBETTA et al., 2009) no xilema e no floema, ao longo do processo de produção da muda. Hunter et al. (2013), após análise multicritério, ao testarem diferentes porta-enxertos, métodos de estratificação, tipos de solo e métodos de irrigação, verificaram que existem fatores de ordem macro e micro, determinantes do dano à planta-matriz e ao próprio material propagativo ao longo da enxertia. Segundo
estes autores, a maior consequência do estresse foi a má-formação das conexões intervasculares do enxerto, resultando na ativação do mecanismo de incompatibilidade ou anormalidade.

O efeito do dano sobre a formação das mudas tem sido considerado em escala de campo e do processo. Popescu et al. (2014), caracterizando agrotecnicamente matrizesiro na França e Romênia, concluíram que as condições edafoclimáticas de cada local foram determinantes no acúmulo de açúcares e carboidratos entre os anos, para os mesmos clones. Já em nível de processo, Iliescu et al. (2012) observaram que, quando o conteúdo de carboidratos do material vegetal se encontrava abaixo de 12%, este tornava-se inviável para a produção da muda. Estes mesmos autores verificaram que, o uso prolongado da hidratação no pré-plantio, por mais de 24 horas, resultou na redução dos carboidratos e, portanto, maior percentual de mudas mortas. Situação semelhante foi constatada por Gramaje e Di Marco (2015), que verificaram reduções extremas de oxigênio em pacotes lacrados para evitar perda de umidade do material propagativo armazenado em câmara fria. Até certos níveis, a redução do oxigênio estimula a brotação das gemas, porém, em níveis muito baixos, há uma produção de substâncias tóxicas, levando à perda de qualidade fisiológica do material.

A partir do detalhamento fisiológico do processo de produção da muda, tem-se verificado que práticas comuns e desconsideradas pelos viveiristas apresentam elevado impacto na qualidade fisiológica da muda. Por exemplo, em levantamento realizado por Gramaje e Di Marco (2015), 51% dos viveiros tardavam até 4 horas para o trânsito, entre a coleta e a chegada ao viveiro. A permanência do material propagativo em trânsito por tempo excessivo, resultou em maior desidratação e em riscos de contaminação por patógenos.

Avanços observados nos esquemas de certificação

A necessidade de reduzir o dano fisiológico do material propagativo ao longo da propagação e a tendência do uso combinado de tecnologias para prevenção de doenças de tronco, em diferentes etapas, têm evidenciado a urgente necessidade de evolução dos esquemas de certificação. Halleen e Fourie (2016) propuseram uma estratégia integrada de certificação com foco no manejo de doenças do tronco, para viveiros da África do Sul. Inicialmente, o material vegetal coletado em jardins clonais é desinfestado em solução fungicida de amplo espectro, como benomil ou carbendazim, antes do armazenamento em câmara fria. Antes da enxertia, o material é submetido ao TAQ (50°C durante 45 minutos) e, posteriormente, é resfriado por imersão em uma solução de água com cloreto de didecildimetilaminônio, durante 30 minutos. Após a enxertia, o material é mergulhado durante um minuto em uma solução de Trichoderma, antes da colocação nas caixas de estratificação. Esta mesma imersão é realizada antes do plantio. No viveiro, as mudas são mantidas livres de doenças foliares, nematoídes, doenças do solo, etc., a fim de reduzir o estresse. Finalmente, antes da comercialização, as mudas são novamente submetidas ao TAQ, a fim de erradicar doenças de solo, como o Pê-preto, Pythium e Phytophthora que, eventualmente, possam ter infectado a muda. Este processo foi validado pelos autores e mostrou-se altamente eficiente com melhoria significativa da qualidade fitossanitária das mudas produzidas.

No que se refere à transferência e ao controle do material básico constituído de jardins clonais, novos modelos de negócios estão sendo delineados. Naqueles países onde há certificação oficial, existe valorização pela preservação de clones locais, restrição das importações de materiais vegetais e garantia da propriedade intelectual. Desta forma, os modelos de negócios têm buscado aumento do controle da distribuição do material básico junto aos viveiristas (ALLEY; GOLINO, 2000). Já nos países que não apresentam um modelo de certificação oficial, há uma busca de soluções alternativas através de esquemas voluntários para a constituição de jardins clonais de alta sanidade. Por exemplo, no Brasil, plantas obtidas após termoterapia in vitro, associada ao cultivo in vitro, foram indexadas por método molecular para as viroses do complexo do enrolemento da folha, intumescimento dos ramos, degenerescência da videira, mancha das nervuras e caneluras do tronco. Estas plantas são, sistematicamente, transferidas apenas a viveiristas contratados mediante confirmação de sua capacidade técnica e atendimento a requisitos mínimos para propagação de mudas (GROHS et al., 2015).

CONCLUSÃO

Apesar de a prática de enxertia em videira ter origem na antiguidade, com registros do início na era cristã, somente nos últimos 130 anos que a técnica moderna foi desenvolvida. Neste período, é possível subdividi-lo em três ciclos: 1) de 1900 a 1950: ênfase na compatibilidade da enxertia para diferentes porta-enxertos resistentes à filoxera; 2) de 1950 a 2000: ênfase na padronização do processo de produção e nos programas para certificação fitossanitária, com
foco no vírus); 3) a partir dos anos 2000: ênfase na diagnose e no manejo de novas pragas, com foco em doenças de tronco; no ajuste dos protocolos de produção para especificidades locais e nos novos modelos de certificação.

Inerente a este novo ciclo, as recentes descobertas científicas têm sido acompanhadas por inovações em automação como: máquinas específicas para enxertia, estratificação e colheita de material vegetal; equipamentos para tratamentos fitossanitários físicos; disponibilidade de insumos químicos e biológicos específicos para mudas. Porém, como desvantagens, há aumento da complexidade dos atuais programas de certificação e dos custos da produção, levando à seleção de viveiristas. Desta forma, espera-se que, no médio prazo, ocorra ganho em qualidade de vinhedos com maior sanidade, longevidade e produção. Porém, no curto prazo haverá uma tendência de limitação na capacidade de atendimento da demanda pelos viveiristas, restrição do comércio internacional e o consequente aumento no custo da muda.

REFERÊNCIAS


ALLEY, C.J. Mechanized grape grafting: portable machine developed for bench or field grafting of grapes saves time and eliminates the need for skilled labor. California Agriculture, Richmond, v.11, n.6, p.3-12, 1957.


AROCA A.; GRAMAJE, D.; ARMENGOL, J.; GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; RAPOSO, R. Evaluation


