



FICE

4^A FEIRA DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA E EXTENSÃO
15 e 16 de Setembro

FUNGO ARBUSCULAR MICORRÍZICO *Glomus etunicatum* NO CONTROLE DA FUSARIOSE EM PORTA-ENXERTO MICRO-PROPAGADO DE VIDEIRA

Paula Carolina Kath¹; Liliane Martins de Brito²; Ricardo de Araújo³

INTRODUÇÃO

A videira encontra-se entre as mais antigas plantas cultivadas pelo homem, que desde os primórdios de sua existência já se alimentava dos frutos desta planta. Através da evolução de seus conhecimentos, o homem aprendeu a fabricar produtos a partir da uva, como o vinho. Uvas de qualidade para a elaboração de vinhos são aquelas provenientes, sobretudo, de um vinhedo sadio (GUERRA, 2001).

A produção de uvas no Brasil encontra-se principalmente nas regiões sul e, em Santa Catarina, é uma exploração agrícola tradicional ligada à sócio-economia de regiões de origem italiana. A partir do final dos anos 90, surge uma nova região destinada à produção de uvas para vinhos finos (BRITO, 2012). Situada na região central de Santa Catarina, em altitudes de 900 a 1400 acima do nível do mar, essa região é caracterizada por condições edafoclimáticas que possibilitam retardar a colheita para períodos mais favoráveis à completa maturação fisiológica (MARTINS, 2006). Contudo, segundo Botton *et al.* (2003), muitos produtores nos últimos anos estão encontrando limitações de ordem fitossanitária, que praticamente inviabilizam o cultivo em determinadas áreas sem a utilização de práticas modernas.

Segundo Camargo (1994), é recomendável o uso da técnica da enxertia de videiras com porta-enxertos adequados e saudáveis para um melhor desempenho dos vinhedos por – além de proporcionar o controle de pragas e doenças, através da resistência ou tolerância da espécie a esses organismos – pode

¹Aluna do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Catarinense, Videira. Curso de Educação Profissional e Técnica Integrados ao Ensino Médio em Agropecuária. E-mail: paulakath.11@gmail.com.

²Professora Orientadora do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Catarinense, Videira. Curso de Educação Profissional e Técnica Integrados ao Ensino Médio em Agropecuária. E-mail: lilianebrito@ifc-videira.edu.br

³Professor Co-orientador do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Catarinense, Videira. Curso de Educação Profissional e Técnica Integrados ao Ensino Médio em Agropecuária. E-mail: ricardo.araujo@ifc-videira.edu.br



FICE

4^A FEIRA DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA E EXTENSÃO
15 e 16 de Setembro

ocasionar um maior desenvolvimento inicial das plantas, um maior vigor geral das videiras e uma produção de cachos e bagas com características adequadas à vinificação.

Entre as técnicas de propagação de videiras, a micropropagação oferece uma série de vantagens, tais como: a possibilidade de multiplicação em larga escala e em curto período de tempo; a utilização de espaço reduzido para a obtenção de elevada quantidade de exemplares; a obtenção de plantas livres de doenças e pragas; a precisão no estabelecimento de cronogramas de produção e comercialização; e a homogeneidade e vigor das plantas obtidas (BIASI, 1998; GUERRA, 2001). Além disso, BARBOSA *et al.* (1986) observaram que pelo método tradicional de propagação de videiras, a quantidade de mudas obtidas sofre restrições conforme a capacidade do viveirista na formação dos porta-enxertos e posterior realização da enxertia. O processo demanda muito tempo, mão-de-obra e considerável espaço físico, além de possibilitar eventualmente a propagação de materiais com problemas fitossanitários. As técnicas de cultura de tecidos podem proporcionar a obtenção de maiores quantidades de materiais de propagação da videira, em tempo abreviado, e de melhor qualidade fitossanitária. Por essa razão, muitos pesquisadores têm experimentado com relativo sucesso sua propagação através do cultivo *in vitro* ou micropropagado.

Um dos problemas que gerou queda de produtividade, a partir da década de 90, foi a ocorrência da anomalia conhecida como declínio e morte das plantas ou fusariose, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f.sp *herbemontis* que ataca o sistema radicular (BORGUEZAN *et al.*, 2003). Hoje em dia, o método mais eficiente e econômico de controle da fusariose é através do uso de cultivares de porta-enxertos resistentes (SCHUCK *et al.*, 1993; ANDRADE *et al.*, 1993; citados por CARNIEL, 2004). No entanto, a utilização de porta-enxertos resistentes deve ser associada a outras práticas de manejo, para maior sucesso no controle da doença. Entre as práticas de manejo que podem auxiliar no controle desta doença, e cujo estudo começa a ser intensificado, está a inoculação dos porta-enxertos com fungos micorrízicos arbusculares (FMA).



FICE

4^a FEIRA DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA E EXTENSÃO
15 e 16 de Setembro

Os fungos micorrízicos são exemplos de microrganismos benéficos às plantas e com potencial de controle biológico de patógenos. Embora alguns relatos mostrem um aumento na incidência de moléstias, de maneira geral, observa-se um decréscimo no ataque de fungos fitopatogênicos em raízes de plantas micorrizadas. O emprego de microrganismos para o controle de fitopatógenos pode ser direto, quando esses são utilizados vivos; ou indireto, através da aplicação de seus metabólitos. Em ambos os casos necessita-se obter produtos que mantenham as características dos microrganismos ou de seus metabólitos. Desta forma, esses produtos precisam ser adequadamente formulados para facilitar a comercialização, o transporte, a aplicação e o armazenamento, sem que ocorram grandes alterações em suas características (CARNIEL, 2004).

A evidente necessidade de estudos específicos para definir práticas de propagação adequadas à cultura da videira aliadas ao controle de fitopatógenos como o fungo *Fusarium oxysporum* f.sp *herbemontis* causador da fusariose, suprindo as demandas das regiões vitivinícolas de Santa Catarina de mudas com qualidade genotípica e fitossanitária.

PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

O experimento foi conduzido na Estação Experimental de Lages, no Laboratório de Biotecnologia, durante o período de 2014 e 2015.

Para os estudos, foi utilizado o porta-enxerto SO4 (*Vitis berlandieri* x *Vitis riparia*), cujas plantas matrizas foram mantidas em casa de vegetação.

Isolamento do fungo patogênico: Videiras de *Cabernet sauvignon*, apresentando sintomas da fusariose, foram coletadas em um vinhedo do Município de Videira, SC, em 2014. Fragmentos de tecido do tronco da planta foram colocados em câmara-úmida durante sete dias, à temperatura ambiente e, após este período, foi realizado o isolamento do fungo *Fusarium oxysporum* f.sp *herbemontis* em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar), contido em placas de Petri. As colônias foram incubadas em BOD a 20°C, com fotoperíodo de 12 h durante 15 dias. Isolamentos



FICE

4^A FEIRA DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA E EXTENSÃO
15 e 16 de Setembro

monospóricos foram realizados a partir dos conídios produzidos pelo fungo. Os isolados foram armazenados em BDA, em ambiente resfriado.

Obtenção do FMA: A espécie do fungo micorrízico arbuscular (FMA) *Glomus etunicatum* foi utilizado no experimento sobre a ação da associação micorrízica perante a fusariose em porta-enxertos de videira. Para a multiplicação dos inóculos, utilizou-se plantas de manjericão (*Ocimum basilicum*) como hospedeira, cultivadas em vasos previamente desinfestados, com substrato autoclavado preparado à base de solo, composto termofílico e vermiculita (2:3:3, v:v:v), já testado em trabalhos anteriores (CASSOL, 1996, citado por PEREIRA, 2006).

Micropropagação do porta-enxerto SO4: Para a produção das mudas micropropagadas, explantes das plantas matriz foram imersos por 10 minutos em água destilada + detergente Tween 20 (20 gotas/L); 3 minutos em álcool 70% em agitação. Em câmara de fluxo laminar, permaneceram por 15 minutos em hipoclorito de sódio (1,5%) + Tween 20 (20 gotas/L) e foram submetidos a três lavagens com água destilada. Os explantes foram estabelecidos e multiplicados, em meio de cultura nutritivo MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962, citado por LIMA DA SILVA & DOAZAN, 1995) padrão, solidificado com 6 g/L de ágar (Merck®), e o pH ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 120°C, por 20 minutos. Os frascos foram mantidos em câmaras de crescimento durante 40 dias ou até as plantas atingirem altura em torno de 5-6 cm.

Aplicação dos tratamentos: Após o estabelecimento *in vitro*, segmentos das plântulas foram repicadas em diferentes ambientes de crescimento *in vitro*: em frasco com meio MS, ágar-ágar (tratamento 1); em frasco com meio MS líquido, sem ágar-ágar, acrescido de vermiculita (tratamento 2); e em tubo de ensaio com meio MS líquido, sem ágar-ágar, acrescido de vermiculita (tratamento 3). Novamente os frascos foram mantidos em câmaras de crescimento durante 40 dias ou até as plantas atingirem altura em torno de 5-6 cm.

Posteriormente, as plântulas do porta-enxerto, nos diferentes ambientes de crescimento *in vitro*, foram inoculadas depositando-se três discos de meio de cultura com micélio de *Fusarium oxysporum* f.sp *herbemontis* no colo de cada



FICE

4^A FEIRA DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA E EXTENSÃO
15 e 16 de Setembro

planta, ou seja, em frasco com meio MS, ágar-ágár, com *F. oxysporum* (tratamento 1.1); em frasco com meio MS, ágar-ágár, sem *F. oxysporum* (tratamento 1.2); em frasco com meio MS líquido, sem ágar-ágár, acrescido de vermiculita, com *F. oxysporum* (tratamento 2.1); em frasco com meio MS líquido, sem ágar-ágár, acrescido de vermiculita, sem *F. oxysporum* (tratamento 2.2); em tubo de ensaio com meio MS líquido, sem ágar-ágár, acrescido de vermiculita, com *F. oxysporum* (tratamento 3.1); em tubo de ensaio com meio MS líquido, sem ágar-ágár, acrescido de vermiculita, sem *F. Oxysporum* (tratamento 3.2). As plantas foram incubadas a 24°C com fotoperíodo de 12 horas. Após 45 dias, avaliou-se à presença de sintomas.

Em estudo paralelo, as plântulas do porta-enxerto SO4, expostas à fusariose ou não (controles), receberam uma mistura de inóculo do FMA *Glomus etunicatum*. Aos 45 dias avaliou-se a interação estabelecida entre porta-enxerto, fungo micorrízico e fungo patogênico.

Os experimentos sobre a inoculação de *Fusarium oxysporum* f.sp *herbemontis* e a combinação com o fungo micorrízico arbuscular sobre a fusariose no porta-enxerto de videira SO4, foi realizado em delineamento completamente casualizado, com 16 repetições e, quando houve efeitos significativos dos tratamentos, as médias foram separadas pelo teste *Student Newman Keuls* (SNK), ao nível de 5% de probabilidade.

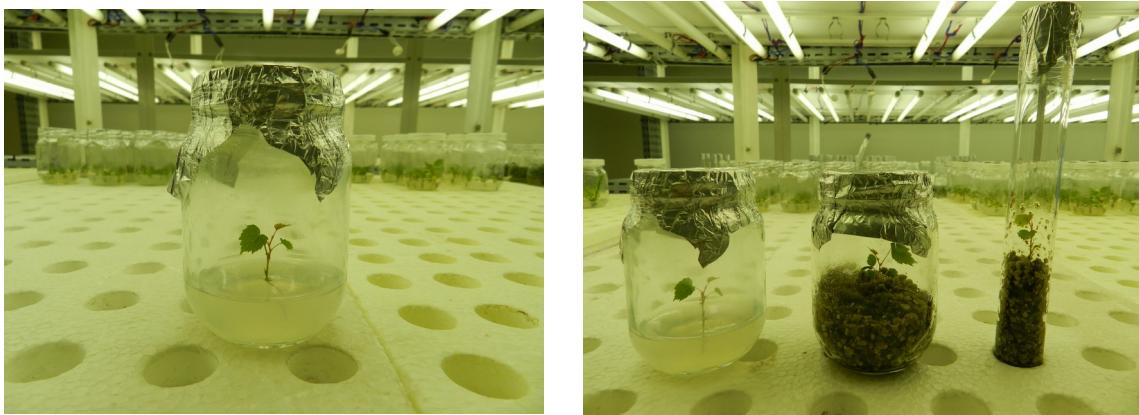
RESULTADOS E DISCUSSÕES

Dos segmentos de plântulas do porta-enxerto SO4, semelhantes aos utilizados nas repicagens, postos para se desenvolverem nos diferentes ambientes de crescimentos *in vitro*, resultaram em plântulas com desenvolvimento adequado para a inoculação do fungo patogênico *Fusarium oxysporum* f.sp. *herbemontis* e/ou micorrízico *Glomus etunicatum*, para posterior observação dos sintomas característicos da fusariose ou das interações estabelecidas entre esses microrganismos antagônicos da rizosfera da videira, no controle biológico da moléstia (FIGURA 1 A e B).



Apesar da possibilidade dos diferentes meios de crescimento *in vitro* resultarem em plantas viáveis, os tratamentos que utilizaram vermiculita (tratamentos 2 e 3), ao invés de agár-ágar no meio de cultura, regeneraram poucas plântulas a partir de segmentos nodais, sugerindo que o tratamento testemunha é significativamente superior nesse quesito.

Figura 1 - Plântulas adequadas à inoculação do fungo patogênico e/ou micorrízico em meio *in vitro*.



A. Detalhe de uma plântula desenvolvida em meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962, meia força).

Fonte: Brito e Kath, 2014.

B. Plântulas desenvolvidas *in vitro*, em meio MS, em MS líquido + vermiculita + frasco e em MS líquido + vermiculita + tubo de ensaio, da esquerda para a direita. Fonte: Brito e Kath, 2014.

Nos estudos, apenas 6% dos segmentos micropropagados em ambiente *in vitro*, em meio MS líquido, com vermiculita, em frascos (tratamento 2) ou tubos de ensaio (tratamento 3), decorreram em plântulas adequadas para a continuação dos estudos. No tratamento testemunha (tratamento 1), 86% dos segmentos micropropagados em meio MS, com ágar-ágar, em frascos, resultaram em plântulas viáveis. A baixa porcentagem no desenvolvimento do porta-enxerto a partir de segmentos micropropagados em MS líquido, com vermiculita, pode estar relacionado com a intoxicação das plântulas pelo desprendimento de gases, circunstância observada pelo forte aroma desprendido pelos frascos ou tubos de crescimento ao serem abertos. Entretanto, essa hipótese ainda precisa ser mais estudada.

Já os segmentos que não se regeneraram em plântulas no tratamento controle, foi devido à oxidação ou ao tamanho do segmento utilizado na cultura *in*



vitro. Autores relatam que alguns ápices permaneceram verdes ou com pequenas porções oxidadas, porém sem apresentar desenvolvimento. Alguns ápices mesmo apresentando crescimento (pelo menos o triplo do tamanho do explante original), não evoluíram ao ponto de possuírem folhas expandidas. Talvez este fato tenha ocorrido devido ao pequeno tamanho dos explantes, já que quanto menor o ápice meristemático, mais difícil é a sua regeneração (PASSOS *et al.*, 1985; KORUZA & JELASKA, 1993; BIASI *et al.*, 1998).

Outro fato que precisa ser analisado está na diferença observada entre plântulas desenvolvidas em ambientes de crescimento proporcionado pelos frascos e tubos de ensaio. Esperava-se que as mudas crescidias em tubos de ensaio poderiam ser mais altas e permanecer mais tempo no ambiente *in vitro*, viabilizando o desenvolvimento do porta-enxerto no decorrer do experimento. Porém, visualmente as plântulas que se desenvolvem em ambiente *in vitro* proporcionado por frascos, apresentaram folhas e sistema radicular mais desenvolvidos.

Após o período de cultivo *in vitro*, inoculação e apresentação dos sintomas característicos da moléstia, forma necessários 45 dias. Um período relativamente curto em comparação aos testes de patogenicidade em ambiente *ex vitro*, Postulados de Koch realizado em casa de vegetação ou à campo. Segundo Garrido *et al.* (2004), a avaliação dos Postulados de Koch em videiras cultivadas em ambiente *in vitro*, permitiram a avaliação do desenvolvimento de sintomas, em metade do tempo (três meses) necessário para a mesma avaliação em casa de vegetação (seis meses).

Com o ensaio, observou-se que todas as plântulas inoculadas com o fungo patogênico apresentaram sintomas da doença vascular provocada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f.sp *herbemontis*, em relação aos tratamentos testemunha, demonstrando a virulência da cepa isolada.

O fungo patogênico, em contato com as plântulas desenvolvidas em MS, com ágar-ágár (tratamento 1.2), tornaram-se saprófitas, sobrevivendo dos nutrientes fornecidos pelo meio de cultura. Contudo, as plantas apresentaram desenvolvimento característico de plantas com moléstia, ficando a dúvida se tais sintomas são decorrente da presença do fungo nos tecidos vegetais ou por competições por



FICE

4^A FEIRA DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA E EXTENSÃO
15 e 16 de Setembro

nutrientes no meio de crescimento (FIGURA 2A). Quando o fungo foi posto em contato com plântulas desenvolvidas em frascos com MS líquido, com vermiculita (tratamento 2.2), o caráter do patógeno de se tornar saprófita não parece ser evidente e acarreta em sintomas característicos da fusariose.

Figura 2 - Plântulas não inoculadas e inoculadas com o fungo patogênico *Fusarium oxysporum* f.sp *herbemontis*, desenvolvendo-se em ambiente proporcionado por frascos de crescimento *in vitro*.



A. Plântula testemunha (esquerda) e inoculada (direita), desenvolvendo-se em meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962).

Fonte: Brito e Kath, 2014.



B. Plântula testemunha (esquerda) e inoculada (direita), desenvolvendo-se em meio MS líquido, com vermiculita.

Fonte: Brito e Kath, 2014.

Da mesma forma, plântulas desenvolvidas em tubos de ensaio, com MS líquido, com vermiculita, quando inoculadas com o patógeno (tratamento 3.2), apresentaram os peculiares sintomas da moléstia que afeta o sistema vascular das videiras (FIGURA 3, direita). Nesse caso, o fungo também não aparentou ser saprófita, apesar do meio de crescimento ser rico em nutrientes.



Figura 3 – Plântula não inoculada (esquerda) e inoculada (direita) com o fungo patogênico *Fusarium oxysporum* f.sp *herbemontis* desenvolvendo-se *in vitro* em meio MS líquido, com vermiculita, em tubo de ensaio (tratamento 3.1 e 3.2).

Fonte: Brito e Kath, 2014.



FICE

4^a FEIRA DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA E EXTENSÃO
15 e 16 de Setembro

Nos ambientes de crescimento *in vitro* deste estudo, não houve possibilidade de utilizar o fungo micorrízico *Glomus etunicatum* sem contaminar o ambiente de crescimento ou matar o fungo, por processo de descontaminação, inviabilizando a observação das interações entre o porta-enxerto e os fungos micorrízico e patogênico em ambiente *in vitro*. Talvez a utilização indireta, através da aplicação de seus metabólitos demonstraria eficiência no controle da moléstia.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ambientes de crescimento proporcionado por frascos ou tubos de ensaio, em meio MS líquido, acrescido de vermiculita, apesar de apresentarem potencial para estudos de patogenicidade, não possibilitaram um adequado desenvolvimento de plantas do porta-enxerto SO4 em quantidade, evidenciando a necessidade de outros estudos.

O fungo patogênico, em contato com as plântulas desenvolvidas em MS, com ágar-ágár, tornaram-se saprófitas, dificultando a percepção dos sintomas da fusariose.

A utilização do FMA, nas condições do experimento, ficou inviabilizado pela contaminação o ambiente de crescimento, impossibilitando a observação das interações entre o porta-enxerto, o fungo micorrízico e o patogênico, em ambiente *in vitro*.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, W.; DALL'ORTO, F. A. C.; OJIMA, M; CAMPOS, S. A. F. C.; TOMBOLATO, A. F. C. Propagação vegetativa *in vitro* de cultivares de macieira. Bragantia, Campinas 45(1): p.143-154, 1986.

BIASI, L.A.; PASSOS, I.R. DA S.; POMMER, C.V. Estabelecimento *in vitro* de porta-enxertos de videira através de ápices meristemáticos e segmentos nodais. Scientia Agrícola. vol. 55 n. 2. Piracicaba. 1998.



FICE

4^a FEIRA DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA E EXTENSÃO

15 e 16 de Setembro

BORGHEZAN, M.; MORAES, L. K. A. de; MOREIRA, F. M.; SILVA, A. L. Propagação in vitro e avaliação de parâmetros morfofisiológicos de porta-enxertos de videira. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v. 38, n. 7, p. 783-789, jul. 2003.

BOTTON, M.; SORIA, S. de J.; HICKEL, E. R. Uvas viníferas para processamento em regiões de clima temperado. *Embrapa Uva e Vinho. Sistema de Produção*, 4. ISSN 1678-8761. Versão Eletrônica. Jul./2003.

BRITO, F. A. Uva e vinho. Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina. 2010-2011. Instituto Cepa – Epagri. Versão Eletrônica. Nov./2012. p. 83-88.

CAMARGO, U.A. Uvas do Brasil. Brasília: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Uva e Vinho, 1994. 90 p.

CAMARGO, U.A. Uvas do Brasil. Brasília: Embrapa-SPI, 1994, 90p. (Embrapa-CNPQV, Documentos 9).

CARNIEL, E. Uso de fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de porta-enxertos de videira e no controle biológico de *Fusarium oxysporum* f. sp. *herbemontis*. Porto Alegre. UFRGS. Dissertação de Mestrado. 2004. 73p.

GARRIDO, L. R.; SONEGO, O. R.; URBEN, A. F. *Cylindrocarpon destructans* causador do “Pé-Preto” da Videira no Rio Grande do Sul. *Fitopatologia brasileira* 29(5), 2004. p. 548-550.

GIOVANNINI, E. Produção de uvas para vinho, suco e mesa. Porto Alegre: Renascença, 3^oedição, 2008. 368 p.

GERDMANN, J.W. & NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal Endogene especies extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, Cambridge, v. 46, p. 235-244, 1963.

GUERRA, C. C. Maturação da uva e condução da vinificação para a elaboração de vinhos finos. In: REGINA, M. A. (Ed). *Viticultura e enologia: atualizando conceitos*. Caldas: EPAMIG – FECD, 2001, p. 179 – 192.

KORUZA, B.; JELASKA, S. Influence of meristem culture and virus elimination on phenotypical modifications of grapevine (*Vitis vinifera* L., cv. Refosk). *Vitis*, v.32, n.1, p.59-60, 1993.

LIMA-DA-SILVA, A. & DOAZAN, J.P. Une méthode d'irradiation aux rayons gamma appliquée à des porte-greffes de vigne in vitro. *J. Int. Sc. Vigne Vin*, 29:1-9, 1995.

MARTINS, L. Comportamento vitícola e enológico das variedades chardonnay, pinot noir, e cabernet sauvignon, na Lomba Seca, em São Joaquim (SC). Florianópolis. UFSC. Dissertação de Mestrado. 2006. 144p.



FICE

4^a FEIRA DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA E EXTENSÃO
15 e 16 de Setembro

PASSOS, I.R. da S.; SONDAHL, M.R.; RIBEIRO, I.J.A.; TERRA, M.M.; PIRES, E.J.P. Cultura in vitro de meristemas de videira. I. Concentrações do hormônio 6-BA em meio primário. *Bragantia*, v.44, n.1, p.473-479, 1985.

PASSOS, I.R. da S.; POMMER, C.V. Estabelecimento *in vitro* de porta-enxertos de videira através de ápices meristemáticos e segmentos nodais. *Scientia Agrícola*, Piracicaba, v. 55, n. 2, p.45-49, 1998.

PEREIRA, F. Interação entre fungos micorrízicos arbusculares e *Fusarium oxysporum* f.sp *herbemontis* nos porta-enxertos de videira SO4, R-110 e 043-43. Florianópolis. UFSC. Dissertação de Mestrado. 2006. 89p.

PEREIRA,F.; LOVATO,P.E. Seleção de substratos e fungos micorrízicos arbusculares para aclimatização de porta- enxertos de videira. Relatório ao Programa Pibic/CNPq 2002.

PROTAS, J. F da S.; CAMARGO, U. A.; MELO, L. M. R. A viticultura brasileira: realidade e perspectivas. In: REGINA, M. A. (Ed.). *Viticultura e enologia: atualizando conceitos*. Caldas:EPAMIG-FECD, 2001, p. 17-32.

RAVEN, P. H. *et al.* Biologia Vegetal [coordenação da tradução Jane Elizabeth Kraus; revisão técnica Jane Elizabeth Kraus, Neuza Maria de Castro; tradução Ana Cláudia de Macêdo Vieira... ET al.]. – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. il.; 329 p.

SÔNEGO, O. R. Avaliação de porta-enxertos de videira frente à fusariose, em condições de campo. Embrapa – Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho. Comunicado Técnico, nº28. Ago. 1998. p. 1-4.