

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
CURSO DE AGRONOMIA
AGR99006 – DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**Denilson Lerin
00192452**

***“COLETA E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS EM EXPERIMENTOS COM
VIDEIRAS NA EMBRAPA UVA E VINHO”***

PORTO ALEGRE, Setembro 2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
CURSO DE AGRONOMIA

**“COLETA E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS EM EXPERIMENTOS COM
VIDEIRAS NA EMBRAPA UVA E VINHO”**

Denilson Lerin

00192452

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do Grau de Engenheiro Agrônomo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Supervisor de campo do Estágio: Eng^o. Agr. Dr. Henrique Pessoa dos Santos

Orientador Acadêmico do Estágio: Prof. Eng^o. Agr Dr. Paulo Vitor Dutra de Souza

COMISSÃO DE AVALIAÇÃO:

Prof. Fábio Kessler Dal Soglio (Departamento de Fitossanidade – Coordenador)

Prof. Alberto Vasconcellos Inda Junior (Departamento de Solos)

Profa. Beatriz Maria Fedrizzi (Departamento de Horticultura e Silvicultura)

Profa. Carine Simioni (Departamento de Plantas Forrageiras e agrometeorologia)

Profa. Mari Lourdes Bernardi (Departamento de Zootecnia)

Prof. Samuel Cordeiro Vitor Martins (Departamento de Plantas de Lavoura)

PORTO ALEGRE, Setembro de 2016

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Celio Luis Lerin e Maristela Pastorello Lerin, por serem pais modelo de honestidade, perseverança, esforço, carinho e que, pelo suporte incondicional em todos os estágios da minha vida, tornaram isso possível e ao meu irmão, Denis Lerin, por sempre perder a paciência com minhas brincadeiras tornando-as mais engraçadas.

Aos meus amigos de Bento Gonçalves que estiveram comigo desde minha infância, em especial ao André Oliveira, cujas piadas e brincadeiras sempre ajudaram a aliviar o estresse da faculdade.

Aos meus amigos que estudaram juntos nas mesmas disciplinas e futuros colegas agrônomos da UFRGS, em especial à Carolina Silveira por sempre me ajudar com os materiais de estudo e ser o único ser humano da faculdade a conseguir acompanhar meu ritmo nas cervejadas. Ao Diorgenes Carboni o único a conseguir acompanhar minha linha de raciocínio louca e desafiante digno dos jogos de luta. Ao Rafael Stefanhak Barok, primeiro do seu nome, rei do DALC e dos desesperados por provas antigas, senhor dos aflitos e protetor dos estudantes de agronomia. À Tauana Almeida, pelas noites em claro estudando e fazendo trabalhos de última hora. À Martina Werner e Morgana Werner, pelo apoio psicológico e amor à “Jezebell”. Aos demais colegas que não poderei falar aqui mas quero que saibam que agradeço profundamente por todas as experiências que passamos juntos.

Aos colegas de DALC, formados e ainda não formados, pelo altruísmo e iniciativa de participar do diretório acadêmico.

Aos professores que me auxiliaram durante a vida acadêmica cujos conselhos levarei para a vida profissional, em especial os professores Paulo Vitor Dutra de Souza, Gilmar Arduíno Bettio Marodin e Magnólia Aparecida Silva da Silva pelo acompanhamento durante os semestres e no estágio.

À EMBRAPA Uva e Vinho, em especial ao Eng.º Agr.º Henrique Pessoa dos Santos, pela oportunidade de estágio, suporte, dedicação e conselhos passados neste período.

RESUMO

Este relatório contém informações sobre as atividades realizadas durante o estágio obrigatório do curso de Agronomia, no período de 15 de dezembro de 2015 a 27 de fevereiro de 2016, realizado na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, unidade Uva e Vinho, nos municípios de Bento Gonçalves, Pinto Bandeira e Santana do Livramento, estado do Rio Grande do Sul. A carga horária foi de 300 horas, tendo a supervisão do Engenheiro Agrônomo Henrique Pessoa dos Santos e orientação acadêmica do Professor Paulo Vitor Dutra de Souza. Teve como objetivo acompanhar as atividades desenvolvidas pelos pesquisadores de fisiologia vegetal na EMBRAPA Uva e Vinho, durante o período de estágio, sendo que o maior destaque foi para a extração de amido, por meios enzimáticos, de ramos de videira que estavam em experimentação e processamento de amostras para medição do nível de maturação das bagas de uvas sob diferentes tratamentos de poda.

LISTA DE FIGURAS

		Página
1.	Mapa da localização de Bento Gonçalves no Rio Grande do Sul.....	9
2.	Vista frontal do prédio administrativo da EMBRAPA Uva e Vinho em Bento Gonçalves-RS.....	12
3.	Tube Eppendorf com amostra de ramos de videira macerados para efetivar a extração de monossacarídeos solúveis	18
4.	Dosador de repetição e vortex utilizados para medir e homogeneizar doses de etanol 80%.....	18
5.	Centrifuga com amostras maceradas de videira para separar o sobrenadante das mesmas.....	19
6.	Amostras maceradas de ramos videira com α -amilase, colocadas em banho-maria à 80°C, para que a enzima atue sobre o material	19
7.	Equipamento empregado na leitura do espectro de cores das amostras, para determinar a quantidade de glicose	20
8.	Amostra de uva Tannat ensacada e identificada para ser conduzida ao laboratório.....	21
9.	Amostras de mosto de uva Tannat, com azul de bromotimol em pH neutro, após a obtenção da quantidade de hidróxido de sódio necessário para tornar o pH neutro	22
10.	Colheita da uva para coleta de amostras para pesagem e análises	23
11.	Coleta de amostras das uvas colhidas para para análises posteriores	23

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	7
2. CARACTERIZAÇÃO DO MEIO FÍSICO E SOCIOECONÔMICO DA REGIÃO DE BENTO GONÇALVES.....	8
2.1 Bento Gonçalves.....	8
2.1.1 Planalto Meridional	8
2.1.2 Clima.....	8
2.1.3 Localização.....	9
2.1.4 Relevo, Vegetação e Hidrografia.....	9
2.1.5 Solos.....	10
2.1.6 Características socioeconômicas.....	10
2.2 Santana do Livramento.....	11
2.3 Pinto Bandeira	11
3. CARACTERIZAÇÃO DA EMBRAPA UVA E VINHO.....	12
4. REFERENCIAL TEÓRICO	13
4.1 Importância da Viticultura no Rio Grande do Sul	13
4.2 Origem, Descrição Botânica e Fisiologia da Videira	13
4.3 Importância do Amido nas Reservas da Videira	14
5. ATIVIDADES REALIZADAS.....	15
5.1 Determinação da Quantidade de Amido em Experimento com Videira.....	16
5.2 Coleta e Processamento de Amostras de Experimentos.....	20
5.3 Outras Atividades Realizadas.....	22
6. DISCUSSÃO.....	24
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26

1. INTRODUÇÃO

No Rio Grande do Sul, a vitivinicultura é considerada uma atividade não apenas economicamente, mas também culturalmente importante. A região viticultora mais tradicional do estado, se não do país, está localizada na Serra Gaúcha, região colonizada por imigrantes italianos provenientes do Vêneto, que já possuíam o hábito e a paixão pela uva e seus derivados. Estas características, juntamente com o clima propício da região, tornaram-se um ambiente fértil para a pesquisa relacionada a essa cultura nobre.

O estágio foi realizado na EMBRAPA Uva e Vinho, no município de Bento Gonçalves, Rio Grande do Sul, Brasil, com duração de 300 horas, iniciando no dia 15 de dezembro de 2015 e sendo finalizado em 25 de fevereiro do 2016. O estágio teve orientação técnica do Eng.º Agr.º Henrique Pessoa dos Santos, responsável pelas pesquisas em fisiologia vegetal da EMBRAPA Uva e Vinho, e como orientador acadêmico o professor Paulo Vitor Dutra de Souza. A escolha do estágio deve-se ao respeito e seriedade carregados pela EMBRAPA, interesse pela cultura pesquisada e a importância que a fisiologia vegetal tem na formação de um Engenheiro Agrônomo de excelência.

A proposta do estágio foi o acompanhamento das pesquisas desenvolvidas na instituição relacionadas à fisiologia de videiras, com enfoque especial na coleta a campo de amostras e o processamento em laboratório, a fim de correlacionar os efeitos dos tratamentos fitotécnicos aplicados com as alterações fisiológicas.

2.CARACTERIZAÇÃO DO MEIO FÍSICO E SOCIOECONÔMICO DAS REGIÕES ONDE O ESTÁGIO FOI REALIZADO

O estágio teve como localidade principal para sua realização o município de Bento Gonçalves, o qual será tratado com ênfase, já que neste está localizada a sede principal da instituição bem como seus laboratórios. Os demais municípios de realização do estágio foram Pinto Bandeira e Santana do Livramento, aos quais foram feitas visitas ocasionais para coleta de dados e amostras. Devido a isto, uma menor parcela do tempo de estágio foi destinada a estes municípios se comparados ao primeiro.

2.1 Bento Gonçalves

2.1.1 Planalto Meridional

No estado do Rio Grande do Sul, o planalto meridional cobre mais da metade da área do estado, possuindo limites ao norte com o estado de Santa Catarina, ao sul com a depressão central e planície costeira. As principais cidades pertencentes ao Planalto Meridional do Rio Grande do Sul são Bento Gonçalves, Caxias do Sul, Erechim, Passo Fundo (IBGE, 1958).

As altitudes variam de 80 metros nas bordas e chegando a mais de 1000 metros na região dos aparados da serra, sendo que o ponto mais alto é o pico do Montenegro com 1400 metros. É formado principalmente por rochas de origem vulcânica como o basalto, mas possui áreas com rochas sedimentares, como o arenito.

As principais atividades econômicas no Planalto Meridional do Rio Grande do Sul são a agricultura, pecuária leiteira, metalúrgica, turismo, indústria moveleira e vinicultura. As altitudes elevadas conseguem provir temperaturas médias mais baixas que várias regiões do estado, porém a pluviosidade é superior ao ideal na produção de uvas para processamento, podendo prejudicar sua qualidade em anos chuvosos (IBGE, 2010).

2.1.2 Clima

A região possui clima definido como Cfa, de acordo com a classificação de Köppen, sendo caracterizada por ter chuvas bem distribuídas e estações bem definidas. A temperatura média anual fica em torno de 17,2°C. Os invernos são frios podendo facilmente chegar aos 0°C, facilitando a formação de geadas e, sazonalmente, a ocorrência de neve em níveis fracos. A umidade relativa do ar fica em torno de 80%. As chuvas geralmente são bem distribuídas

durante o ano com média de 1.700 mm anuais para a região, porém, podem ocorrer períodos de estiagem, bem como períodos de cheias (EMBRAPA, 2003).

2.1.3 Localização

O município de Bento Gonçalves está situado na região da Serra Gaúcha, dentro do Planalto Meridional, no estado do Rio Grande do Sul (Figura 1), com uma área de 274,069 km² e 113.287 habitantes (IBGE, 2010). A cidade está localizada a uma latitude de 29° 10' 17" sul e longitude de 51° 31' 09" oeste. Com uma altitude média de 691 metros acima do nível do mar, o município está situado na região sul do Brasil e na região nordeste do estado do Rio Grande do Sul, sendo banhado pela bacia do Taquari-antas (IBGE, 1958). Possui distância até Porto Alegre de 120km; até Brasília de 2.010km; até São Paulo de 1.035km (IBGE, 2010). A cidade faz divisas com os seguintes municípios: Veranópolis, Pinto Bandeira, Farroupilha, Garibaldi, Santa Tereza, Monte Belo do Sul, e Cotiporã (IBGE, 2010).

Figura 1. Mapa da localização de Bento Gonçalves no Rio Grande do Sul.



Fonte: Wikipédia

2.1.4 Relevos, vegetação e hidrografia

O município está situado na Bacia Hidrográfica Taquari-Antas, que abrange municípios como Antônio Prado, Caxias do Sul, Estrela e Triunfo, com uma população estimada de 1.207.604 habitantes. A captação de água na bacia destina-se à irrigação, o abastecimento público, a agroindústria e a dessedentação de animais. A Bacia do Taquari-Antas abrange parte

dos campos de cima da serra e região do Vale do Taquari, com predomínio de agropecuária, e a região colonial da Serra Gaúcha, caracterizada por intensa atividade industrial (SEMA, 2010).

A maior parte do planalto meridional no estado do Rio Grande do Sul é formado por floresta ombrófila mista, floresta estacional semidecidual e floresta estacional decidual, características do bioma mata atlântica (IBF, 2000). O relevo possui ondulações que variam de moderadas a bastante acidentadas, principalmente nas encostas de rios.

2.1.5 Solos

Na região do planalto meridional em que o município de Bento Gonçalves está localizado, os solos predominantes são os Argissolos, Chernossolos, Cambissolos, Nitossolos e Neossolos. Argissolos são solos medianamente profundos a profundos, moderadamente drenados, com horizonte B textural e baixos teores de matéria orgânica. Chernossolos são caracterizados pela cor escura, argila de alta atividade e alta saturação de bases, sendo um dos melhores solos para a agricultura. Cambissolos são solos constituídos por material mineral, com horizonte B e geralmente estão localizados em regiões onde o relevo se altera. Nitossolos são caracterizados pela presença de horizonte diagnóstico subsuperficial B nítico em sequência a qualquer tipo de horizonte A. Os Neossolos podem ser rasos ou profundos, com afloramento de rochas, recentemente formados, sendo encontrado nas mais diversas formas de relevo e necessitam de intensas práticas conservacionistas (STRECK *et al.*, 2008). A estação experimental da EMBRAPA Uva e Vinho, local onde foi realizado o estágio, é composta em sua maioria por Chernossolos e Neossolos, com presenças esporádicas de Argissolos e Nitossolos (VALLADARES *et al.*, 2005).

2.1.6 Características socioeconômicas

O município é reconhecido nacionalmente como a Capital da Uva e do Vinho, sendo a pioneira no país no desenvolvimento do Enoturismo, reflexo do fato que a Serra Gaúcha é a maior e mais importante região vitivinícola do Brasil, sendo responsável pela produção de 85% dos vinhos nacionais (IBRAVIN, 2010). Bento Gonçalves é o maior e o mais expressivo pólo moveleiro do estado, conhecido internacionalmente e com mais de 300 empresas na área (SINDIMOVEIS, 2012). A cidade possui empresas de renome nacional e internacional em várias áreas de atuação, como, por exemplo, a Vinícola Aurora, Casa Valduga, Cave Geisse, Isabela – Massas, Biscoitos e Torradas, Todeschinni S/A, Miolo Wine Group e Vinícola Salton.

A cultura das videiras em Bento Gonçalves é efetivada principalmente por pequenas propriedades familiares, cerca de 1.200 famílias. Isso ocorre devido ao relevo acidentado que

dificulta a mecanização dos processos e a forma de colonização da região. A área de videiras plantadas no município é de aproximadamente 5.400 ha, com produção média de 94.500 toneladas de uva comum e 33.210 toneladas de uva vinífera (PREFEITURA MUNICIPAL DE BENTO GONÇALVES, 2015).

O município possui PIB de R\$4.737.043 e renda per capita de R\$ 42.528,93 ficando entre os 15 municípios com a maior renda do estado (FEE, 2015).

2.2 Santana do Livramento

O município está dividido entre as províncias geomorfológicas da Depressão Central e do Planalto Meridional, no estado do Rio Grande do Sul, localizado a uma latitude 30°53'27" sul e a uma longitude 55°31'58" oeste e está a uma altitude de 208 metros e a uma distância de 498 km da capital Porto Alegre. Possui 82.464 habitantes em uma área total de 6.941.613 km². As principais atividades econômicas da cidade estão ligadas à agropecuária, comércio e o turismo (IBGE, 2010).

Seu clima é Cfa, de acordo com a classificação de Köppen, sendo caracterizada por ter chuvas bem distribuídas e estações bem definidas e está inserida no bioma Pampa (EMBRAPA, 2003). Os principais tipos de solos na região em que os vinhedos estavam instalados eram Argissolos e Luvisolos (STRECK *et al.*, 2008).

2.3 Pinto Bandeira

O município está situado na província geomorfológica do Planato Meridional, no estado do Rio Grande do Sul, localizado a uma latitude 29°09'74" sul e a uma longitude 51°45'03" oeste e está a uma altitude de aproximadamente 690 metros e a uma distância de 140 km da capital Porto Alegre. Possui 2.487 habitantes em uma área total de 105,072 km². As principais atividades econômicas da cidade estão ligadas à agricultura de plantas frutíferas e ao turismo (IBGE, 2010)

Seu clima é Cfa, de acordo com a classificação de Köppen, sendo caracterizada por ter chuvas bem distribuídas e estações bem definidas e está inserida no bioma Mata Atlântica (EMBRAPA, 2003). Os principais tipos de solos na região são Argissolos, Chernossolos, Cambissolos, Nitossolos e Neossolos semelhantes ao município de Bento Gonçalves (STRECK *et al.*, 2008).

3. CARACTERIZAÇÃO DA EMBRAPA UVA E VINHO

A EMBRAPA Uva e Vinho começou sua história antes mesmo da criação da EMBRAPA-sede no ano de 1972. Sua criação ocorreu no dia 21 de julho de 1941, sendo então concluída no dia 30 de maio de 1942 sob o nome de Estação de Enologia de Bento Gonçalves. Durante os anos de 1944 e 1952, com o auxílio do governo do presidente Getúlio Vargas, da Prefeitura Municipal e do Instituto Rio-grandense do Vinho, foram adquiridas novas áreas atingindo assim os 100 hectares da área atual da empresa. Em 1972 foi criada a EMBRAPA-sede em Brasília, uma empresa pública, vinculada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, com autonomia administrativa e financeira e personalidade jurídica de direito privado, assumindo assim as funções do Departamento Nacional de Pesquisa Agropecuária que, em 4 de março de 1985, atribui a denominação de Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho à EMBRAPA de Bento Gonçalves (EMBRAPA, 2013).

A Instituição vem, ao longo de sua história, desenvolvendo técnicas de produção, tecnologias e viabilizando soluções na fruticultura de caducifólias, principalmente, para que os órgãos extensionistas do governo, EMATER por exemplo, possam então disponibilizar estes conhecimentos para produtores rurais.

Atualmente, a empresa, (Figura 2), possui 13.501m² de área construída, incluindo nove casas de vegetação, três telados, unidade de gerenciamento de resíduos de laboratório, duas estações meteorológicas, câmaras de termoterapia, biblioteca, auditório, prédios administrativos e 16 laboratórios.

Figura 2. Vista frontal do prédio administrativo da EMBRAPA Uva e Vinho em Bento Gonçalves - RS



Fonte: Site da EMBRAPA Uva e Vinho

4. REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 Importância da Viticultura no Rio Grande do Sul

Embora a introdução da videira no Brasil tenha ocorrido em 1532 através de Martin Afonso de Souza, a viticultura só passou a ter alguma importância com a chegada dos imigrantes italianos do norte da Itália, que trouxeram consigo cultivares, *Vitis vinifera*, técnicas empregadas por lá e a cultura de consumir vinho diariamente. Devido a problemas com inimigos naturais, inexistentes na Europa, estas cultivares não prosperaram muito e os produtores passaram a utilizar variedades de uvas americanas, *Vitis labrusca*, importadas de Washington por Marques Lisboa e Thomas Messiter. Assim, foram desenvolvidos os primeiros vinhedos na Ilha dos Marinheiros, para a produção de vinhos denominados “coloniais”, mantendo-se, assim, até o surgimento de empresários estrangeiros, em 1970, que passaram a investir na Serra e Campanha Gaúcha, dando um impulso para que a viticultura saísse de sua estagnação (de Souza, 1969). Atualmente, o estado do Rio Grande do Sul é reconhecido como o principal produtor de uvas para processamento do Brasil, vinho e suco, com uma produção anual média de 709,62 milhões de quilogramas, enquanto que a produção de uvas de mesa é realizada majoritariamente no nordeste do Brasil, em especial Petrolina, chegando a uma produção anual de até 1.500.000 toneladas (IBRAVIN, 2010) .

4.2 Origem, Descrição Botânica e Fisiologia da Videira

De acordo com de Souza (1969), quando o homem surgiu e teve os primeiros vislumbres de consciência a videira já existia e estava estabelecida pelas regiões hiperbóreas há vários milhões de anos, sendo que a Groelândia é provavelmente o centro de origem da videira já que lá é que foram encontrados os fósseis mais antigos. As variedades de *Vitis vinifera caucásica*, utilizadas atualmente, são descendentes de uma espécie encontrada na região da Armênia há mais de 5.500 anos, pois esta apresentava formas e variedades mais apetitosas e mostos vinificáveis se comparada com a espécie europeia da época, *Vitis vinifera silvestris*. A espécie armênic espalhou-se pela Anatólia, atual Turquia, onde os Helênicos trataram de espalhar por suas colônias no mar negro, Grécia, península Ibérica e sul da península Itálica, onde os romanos adquiriram o gosto pelo vinho e espalharam por basicamente toda a extensão de seu território na Europa, Norte da África, Ásia Menor e Oriente Médio.

De acordo com de Toda (1991), a videira é uma trepadeira da família das vitáceas de caule espesso e resistente, verde quando jovem, tornando-se escuro posteriormente. Possui gavinhas e folhas grandes e repartidas em cinco lóbulos pontiagudos, flores creme-esverdeadas

e pequenas, e cujo fruto é a uva. Apesar de ser pivotante, o ângulo geotrópico da raiz da videira varia de acordo com o tipo de solo e ambiente em que ela evoluiu ou adaptou-se. Plantas típicas de solo raso ou muito úmidos tendem a ter um ângulo geotrópico aberto, sendo mais superficiais. *Vitis riparia*, por exemplo, originária de regiões mais secas e com solos mais profundos, geralmente possui raízes com ângulo geotrópico fechado, a fim de obter água em profundidades maiores. *Vitis rupestris*, por exemplo, apesar destas raízes facilmente chegarem a um metro de profundidade no solo, a maioria fica localizada a profundidades de 20cm a 70cm. Conforme já citado, a planta possui hábito de trepadeira, com folhas alternas e gavinhas nas pontas dos ramos para facilitar a fixação da videira em diferentes superfícies ou, no caso das videiras cultivadas, nos arames da estrutura de condução. Suas flores são hermafroditas, formadas essencialmente por pedúnculo, vaso onde circula a seiva bruta e elaborada. Sua floração envolve a libertação da corola e a extrusão dos estames. O cacho de uva é composto de um esqueleto (engaço) dando origem ao fruto (bago).

Conforme EMBRAPA (2003), a temperatura do ar apresenta diferentes efeitos sobre a videira, variáveis em função das diferentes fases do ciclo vegetativo ou de repouso da planta. A videira pode ser uma planta bastante resistente a baixas temperaturas podendo suportar temperaturas de até -20°C . O frio invernal, com temperaturas abaixo de $7,5^{\circ}\text{C}$, é bastante importante para a uniformidade da quebra de dormência. Esta temperatura não é atingida em alguns anos atípicos no estado do Rio Grande do Sul. Temperaturas constantes, acima de 10°C , possibilitam a quebra de dormência e o início do desenvolvimento vegetativo, sendo que 18°C é bastante favorável para a floração. Durante o verão, período de enchimento de bagas e troca de cor, temperaturas acima de 35°C são prejudiciais, pois causam o cessamento das atividades fotossintéticas.

A pluviosidade no Rio Grande do Sul deve ser sempre observada para as práticas culturais e planejamento da compra de insumos no ano, pois, seguidamente, ocorrem anos com chuvas intensas e constantes durante a fase de enchimento de bagas causando rachaduras na epiderme do fruto, doenças de ordem fúngica. Caso isto ocorra durante a mudança de cores e maturação, pode prejudicar a concentração de açúcares na baga (CARBONNEAU et al., 2007).

4.3 Importância do Amido nas Reservas da Videira

Durante as fases vegetativa e reprodutiva da videira, as folhas estão em plena atividade para converter os nutrientes obtidos pela planta em fotoassimilados a fim de serem utilizados para obter energia. Todos os produtos importantes obtidos da videira, como, por exemplo, o vinho, suco, vinagre etc., têm origem nos açúcares obtidos da fotossíntese que são realocados para os frutos. Todos os demais açúcares são transportados para o tronco, raízes, ramos e folhas a fim de suprir estes órgãos e serem armazenados em forma de amido para agir como uma

reserva, em momentos que a fotossíntese não é suficiente para suprir as necessidades fisiológicas da planta, como no início da brotação das gemas após a dormência. Grande parte deste amido de reserva, nos ramos e demais órgãos, é criado e armazenado após a colheita, pois é o momento em que há mais folhas produzindo fotoassimilados e em que os drenos principais, os cachos de uva, não estão presentes. Isto reforça a importância de manter as folhas na planta o máximo de tempo possível antes da chegada da dormência, pois será possível obter uma melhor brotação no próximo ciclo se a planta estiver bem suprida de reservas, fato que se aplica a praticamente todas as plantas caducifólias (MAIA et al., 2003).

A extração do amido e dos açúcares presentes em amostras é feita principalmente por dois métodos: o método de determinação de amido e amilose em vegetais, conhecido também por método de McCready (McCREADY, 1950) e o novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais (AMARAL et al., 2007).

O método de McCready consiste, de maneira resumida, em utilizar ácidos para romper qualquer estrutura formada por glicose a fim de liberar os açúcares para serem medidos. O problema deste método é que ele mede os açúcares solúveis e os presentes nos polissacarídeos que formam a parede celular, pectinas e hemiceluloses, e não apenas os armazenados em amiloplastos que servem de reserva (McCREADY, 1950).

O novo método enzimático possui a vantagem de utilizar enzimas que atacam especificamente o amido que é visado para ser quantificado sem desnaturar outras estruturas celulares da amostra, tornando este método muito mais confiável em relação ao químico. O método consiste na retirada dos açúcares solúveis das amostras com o uso de etanol 80% e o rompimento de endo-ligações α 1,4 com o uso de α -amilase, uma endoenzima, e o uso de amiloglucosidase, uma exoenzima, para romper ligações do tipo exo (AMARAL et al., 2007).

5. ATIVIDADES REALIZADAS

As principais atividades realizadas durante o estágio estão ligadas ao acompanhamento de experimentos realizados com a cultura da videira, visando entender as reações fisiológicas da videira sob diferentes práticas culturais. Alguns dos experimentos trabalhados buscavam avaliar a acidez total, grau brix e peso das bagas de uva em videiras submetidas a diferentes épocas de poda de inverno, mas, o principal trabalho desenvolvido foi a quantificação do amido em ramos destas videiras.

5.1 Determinação da quantidade de amido em experimento com videira

No laboratório de fisiologia vegetal da EMBRAPA Uva e Vinho, durante os primeiros dias, foi dada uma noção geral sobre as normas do laboratório, sobre como se portar e quais materiais de leitura seriam importantes, a fim de aproveitar o máximo de experiência no estágio, e quais seriam as principais atividades realizadas durante o período. O maior envolvimento foi com um experimento sobre os efeitos de diferentes épocas de poda de inverno sobre o armazenamento de amido nas reservas das plantas de videira ao final do seu ciclo. Os parreirais receberam podas quinzenais, a partir da metade do mês de julho até setembro de 2014, e tiveram seus ramos coletados para amostragem durante junho de 2015. As amostras foram coletadas, congeladas em nitrogênio líquido a uma temperatura de -196°C , maceradas e colocadas (100 mg) em tubos eppendorf de 2,0 ml (Figura 3), identificando o código do tratamento de cada amostra. Foram feitas 3 repetições de cada amostra, para caso algo fora da programação acontecesse, por exemplo, caso uma das amostras fosse derramada, ainda haveria duas repetições para serem trabalhadas. As atividades até então haviam sido realizadas pelo pesquisador responsável, mas o processamento das amostras foi efetuado durante o estágio.

O objetivo deste experimento era verificar a possibilidade de fazer podas de inverno tardias sem prejudicar as reservas da planta para o próximo ciclo, na uva merlot, já que níveis muito baixos de amido levariam ao esgotamento da planta durante a brotação e um encurtamento de sua vida produtiva. Uma poda mais tardia permite um atraso na brotação, ajudando no controle de danos causados por geada, além de facilitar o escalonamento de mão de obra, já que o período de atividades como a poda verde e colheita não seria simultâneo com os de outras cultivares.

O primeiro passo a ser realizado é a remoção de açúcares solúveis, pigmentos, fenóis e outras substâncias solúveis da amostra que possam mascarar os resultados. Para isso, utiliza-se

1 ml de etanol 80%, fazendo uso de um dosador de repetição, para efetivar a aplicação do etanol 80% com exatidão, e de um vortex para que seja feita a mistura de maneira mais homogênea possível, fazendo com que a amostra entre totalmente em contato com o etanol 80% (Figura 4). Após a homogeneização, os tubos eppendorf são vedados e colocados em banho-maria por dez minutos a uma temperatura de 80°C. Esse processo tem o objetivo de acelerar as reações de desnaturação dos açúcares solúveis, pigmentos, fenóis e outras substâncias com o etanol 80%, deixando-os em suspensão na solução. Passados os 10 minutos, as amostras voltam ao vortex para serem misturadas e são aquecidas em banho-maria novamente na temperatura de 80°C por 10 minutos. Em seguida, os tubos eppendorf devem ser colocados em uma centrífuga programada para girar a 10.000 rpm em temperatura de 20°C durante 5 minutos (Figura 5). Deve-se tomar cuidado com a distribuição simétrica dos tubos, caso contrário a máquina pode ser quebrada. O uso da centrífuga tem o objetivo de separar os solutos da solução, deixando os monossacarídeos em suspensão e os polissacarídeos e outros solutos maiores, como o amido, depositados no fundo do tubo. Se o objetivo do experimento fosse analisar os monossacarídeos em suspensão, então o líquido seria coletado e analisado, mas como o objetivo é medir o amido, então o sobrenadante é eliminado. O material depositado no fundo do eppendorf sofre o mesmo processo de extração com etanol 80%, descrito anteriormente, por mais duas a quatro vezes e, então, as amostras são deixadas em contato com o ar do ambiente por, no mínimo, 24 h para evaporar o etanol, pois este poderia prejudicar as enzimas na próxima fase da extração. Por precaução este processo foi feito em uma estufa em temperatura de 70°C.

Com as amostras livres de etanol e de açúcares solúveis, pigmentos, fenóis e outras substâncias solúveis, inicia-se a próxima fase, pela adição de 500 µL de água destilada, seguida de agitação no vortex, homogeneizando a solução que ficará em repouso por 3 horas, para hidratar o amido e facilitar as reações das enzimas. Passado o tempo de repouso, são adicionados 100 µL de α -amilase e os tubos eppendorfs são agitados no vortex e colocados em banho-maria (Figura 6), a 80°C por 20 minutos. Desta vez, a incubação no banho-maria tem o objetivo de proporcionar a temperatura ideal para a enzima reagir com a amostra. Passado esse tempo, os tubos são agitados no vortex e colocados novamente em banho-maria, na mesma temperatura, por mais 20 minutos, para que então, sejam adicionados 30 µL de amiloglicosidase e homogeneizados no vortex. Em seguida, as amostras são colocadas novamente em banho-maria, só que desta vez a uma temperatura de 50°C por 15 minutos, pois a amiloglicosidade possui uma temperatura de atuação diferente da α -amilase. O processo de homogeneização no vortex e banho-maria é repetido mais uma vez e, então, são adicionados 500 µL de ácido perclórico 0,8 mol/L para cessar as reações e permitir que as proteínas

precipitem. Pela última vez, o tubo eppendorf é agitado no vortex e colocado na centrifuga a 5.000 rpm, em temperatura de 20°C, por 5 minutos.

Figura 3. Tubo Eppendorf com amostra de ramos de videira macerados para efetivar a extração de monossacarídeos solúveis.



Fonte: Autor

Figura 4. Dosador de repetição e vortex utilizados para medir e homogeneizar doses de etanol 80%.



Fonte: Autor

Figura 5. Centrifuga com amostras maceradas de videira para separar o sobrenadante das mesmas.



Fonte: Autor

Figura 6. Amostras maceradas de ramos videira com α -amilase, colocadas em banho-maria à 80°C, para que a enzima atue sobre o material.



Fonte: Autor

Para elaborar a curva padrão, após a ação das enzimas, foi utilizada uma solução de glicose em doses de 0 μ L, 5 μ L, 10 μ L, 15 μ L e 20 μ L com a adição do complexo enzimático GOD-POD (GOD: Glucose oxidase; POD peroxidase) O peróxido de hidrogênio formado na reação reage com 4-aminoantipirina e fenol, sob ação catalisadora da peroxidase, através de uma reação oxidativa de acoplamento formando uma antipirilquinonimina vermelha, cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de glicose na amostra. Então, as amostras

foram identificadas e preparadas nas placas, vedando-as com filme selador e incubando-as por 15 min a 30°C. Após esse período, o filme é retirado e a leitura é efetuada com um leitor configurado para placa transparente com modo absorvância de comprimento de onda de 505nm (Figura 7). Os resultados deste processo não podem ser divulgados, pois o artigo do autor ainda não foi publicado, então os dados permanecem em sigilo com a EMBRAPA Uva e Vinho.

Figura 7. Equipamento empregado na leitura do espectro de cores das amostras, para determinar a quantidade de glicose.



Fonte: Autor

5.2 Coleta e processamento de amostras de experimentos

O estágio foi realizado durante o verão, época em que as uvas estão em fase de enchimento de bagas e maturação. Durante esta época, vários experimentos estavam em andamento e alguns deles visavam acompanhar o desenvolvimento das bagas de videiras que estavam sob diferentes tratamentos de poda de inverno, visando verificar se podas mais tardias fariam com que as qualidades físico-químicas das bagas de uva Chardonnay e Tannat fossem prejudicadas. Estes dados possibilitariam definir qual seria a época limite para efetivar a poda de inverno destas cultivares na região, permitindo um melhor escalonamento da mão de obra para algumas atividades relacionadas, como a poda verde e colheita. O controle de maturação nos vinhedos experimentais relacionados foi conduzido nos municípios de Pinto Bandeira e Santana do Livramento.

O controle da maturação era iniciado com a coleta de amostras representativas em um talhão homogêneo, com a mesma variedade, mesmo clone e mesmo tratamento, colhendo-se em média 10 bagas por tratamento, as quais eram acondicionadas em saco plástico devidamente identificado (Figura 8). Em seguida, as amostras eram levadas ao laboratório, pesadas e

prensadas para extração do mosto e determinação do grau brix pelo uso de um refratômetro digital. Também era determinada a acidez por titulação e o pH. A medição do pH ficou sob responsabilidade do auxiliar de laboratório, já que o phmetro era emprestado do laboratório de química. A medição da acidez por titulação é feita adicionando-se 2 gotas de azul de bromotimol, em 5 ml de mosto, o qual não muda de cor em pH ácido e torna-se azul em pH neutro (Figura 9). Em seguida era efetuada a titulação com solução de hidróxido de sódio em concentração de 0,1 Normal, sendo medida a quantidade de solução gasta para que o mosto mudasse de cor, passando de amarelado para azulado. Os resultados do experimento não podem ser divulgados, pois o artigo ainda não foi publicado, então permanecem em sigilo com a EMBRAPA Uva e Vinho.

Figura 8. Amostra de uva Tannat ensacada e identificada para ser conduzida ao laboratório.



Fonte: Autor

Figura 9. Amostras de mosto de uva Tannat, com azul de bromotimol em pH neutro, após a obtenção da quantidade de hidróxido de sódio necessário para tornar o pH neutro.



Fonte: Autor

5.3 Outras atividades realizadas

Conforme já foi citado, a EMBRAPA Uva e Vinho possui 16 laboratórios cujas atividades se interligam. Algumas vezes, membros de outros laboratórios dirigiam-se ao laboratório de fisiologia para realizar alguns testes, outras vezes pediam por auxílio nos experimentos e vice-versa. Em um destes momentos, foi requisitado auxílio para implementar um experimento com a videira *Vitis rotundifolia*. Foram espetados arames de cobre nas extremidades de ramos e dadas descargas elétricas de baixa voltagem no sentido copa-raiz. O objetivo do experimento era conduzir alguns hormônios de crescimento polares das gemas terminais para as laterais e incentivar a brotação e enraizamento que é difícil de ser efetivado nesta espécie. Este experimento não foi mais acompanhado durante o estágio, por não ser mais necessário o auxílio.

No município de Santana do Livramento, foi realizada uma atividade bastante laboriosa que era a medida da superfície foliar das videiras que estavam sob experimentação. A atividade consistia em medir o comprimento da nervura central de cada folha das plantas marcadas. Este valor deveria ser repassado nas tabelas do Office Excel para que, então, fosse calculada a superfície foliar total destas plantas. Neste mesmo vinhedo, próximo do final do estágio, foi

realizada a colheita e classificação da uva (Figuras 10 e 11). A atividade consistia em colher todas os cachos de uva de cada planta e colocar em sacos plásticos identificados para que, então, fossem contados, pesados e escolhidas 40 bagas aleatórias para que o responsável do experimento fizesse as medições necessárias.

Figura 10. Colheita da uva para coleta de amostras para pesagem e análises.



Fonte: Autor

Figura 11. Coleta de amostras das uvas colhidas para análises posteriores.



Fonte: Autor

6. DISCUSSÃO

O cultivo da videira está em constante expansão no Brasil, porém, o foco dos produtores é diferente em cada região. A realização do estágio em duas regiões com características físicas e culturais diferentes, Serra Gaúcha e Campanha, permitiu um maior entendimento e a constatação de itens afirmados em aula. Enquanto que na Serra Gaúcha a maior parte da área vitícola pertence a produtores familiares de tradição, na campanha são os produtores empresariais os responsáveis pela expansão da cultura, empresários estes que estão sempre em busca de métodos e conhecimentos que possam aumentar a qualidade de seus vinhedos para obter vinhos de excelência e renome, criando assim, um terreno muito fértil para que as pesquisas na área possam ser desenvolvidas.

O ano de 2015 foi terrível para a viticultura no sul do Brasil, pois presenteou os produtores com excesso de chuvas, tempo nublado, geadas tardias e granizo durante a primavera e verão. Comparando os vinhedos experimentais em Pinto Bandeira e de Santana do Livramento, além de conversar com os técnicos responsáveis por ambos, foi constatada uma diferença gritante na sanidade e produtividade dos parreirais em ambas as regiões. Enquanto que o vinhedo de Pinto Bandeira tinha uma redução na produtividade de até 90%, de acordo com o Engenheiro Agrônomo responsável, os vinhedos de Santana do Livramento chegavam a perdas de 60%. Essa diferença de produtividade é devida, principalmente, às diferenças de clima, já que na Serra Gaúcha o fator altitude tem grande influência, resultando em temperaturas mais baixas, com maiores chances de geadas tardias e maior precipitação, ocasionando altos níveis de umidade que possibilitam o desenvolvimento de doenças fúngicas. Essa influência foi visível, pois muitas parcelas ficaram sem produção suficiente para serem amostradas em Pinto Bandeira, o que poderá mascarar os resultados desta pesquisa neste ano atípico. É possível que seja necessário repetir a metodologia empregada na experimentação durante o ano seguinte.

Os níveis de amido de reserva na videira, durante a fase de dormência, refletem diretamente sobre o que esta planta sofreu durante seu ciclo. Em anos normais, com clima e práticas culturais adequadas, a planta não terá problemas em armazenar suas reservas energéticas que auxiliarão durante a brotação do ano seguinte. Em anos atípicos, como 2015, os reflexos podem estender-se por mais de um ciclo, pois o tempo constantemente nublado prejudica a qualidade do espectro de luz responsável por iniciar as atividades da fotossíntese. Isto resulta em menor taxa de produção de fotoassimilados responsáveis em providenciar a energia que a planta necessita para completar o ciclo, forçando a planta a consumir as reservas de amido que seriam direcionadas para a brotação do ano seguinte. Frente a um ano como este,

em que as perdas chegam a 90%, a possibilidade de abortar a safra, a fim de salvar o ciclo seguinte e a vida útil da videira, não seria uma possibilidade absurda. Porém, vários aspectos devem ser observados antes de tomar tal medida drástica, como a sanidade da planta, se está muito afetada por doenças como o míldio, os níveis de amido, fazendo-se necessária a análise, os custos para efetivar a safra e se irá valer a pena pagar a mão de obra para fazê-la.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A EMBRAPA é uma instituição devotada em desenvolver conhecimentos e tecnologias que possam facilitar o trabalho dos técnicos e produtores. Para isto, são necessários experimentos de grandes dimensões a fim de que os resultados não sejam mascarados. São efetivadas várias repetições de uma determinada avaliação ou método, resultando em trabalhos extremamente repetitivos e cansativos, o que pode desencorajar pesquisadores e bolsistas, ainda mais quando a empresa é diretamente ligada ao governo federal.

O fato da empresa ser ligada ao governo implica que a maioria da verba para projetos de pesquisas vem dos cofres públicos, cujos recursos estão escassos com a crise em que o país está passando. Isto resulta em cortes de verbas para pesquisas que estão em andamento e deixa uma pergunta no ar: como ficam os experimentos em andamento que tiveram sua verba cortada? Estes ficam suspensos até que se obtenha recursos para sua continuidade podendo, neste meio tempo, perder amostras e dados importantes. A EMBRAPA possui profissionais excelentes que estão com seu potencial limitado devido à falta de incentivo do governo e investidores para obter materiais e mão de obra qualificada para a execução das atividades. A EMBRAPA Uva e Vinho, em especial a área de pesquisa em fisiologia vegetal, é uma ótima opção para realização do estágio, possui uma excelente estrutura física, profissionais capacitados que têm orgulho do trabalho que fazem.

A fisiologia vegetal é praticamente a mesma para todas as plantas de interesse econômico. Ela ajuda a explicar o que ocorre com os vegetais em determinadas situações e, então, é possível usar uma medida para melhorá-la ou mudá-la. Isso faz com que todos os conhecimentos obtidos durante o estágio não sejam unicamente empregados para a videira, mas também para as demais culturas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, L. I. V.; GASPAR, M.; COSTA, P. M. F.; AIDAR, M. P. M.; BUCKERIDGE, M. S. **Novo Método Enzimático Rápido e Sensível de Extração e Dosagem de Amido em Materiais Vegetais**. Hoehnea 34(4): 425-431, 2 tab., 2007.
- CARBONNEAU, A; DELOIRE, A; JAILLARD, B. **La Vigne Physiologie, Terroir, Culture**. Paris: Editora Dunod, 2007. p 67-76.
- DE TODA, F.M. **Biologia de la Vid. Fundamentos Biologicos de la Viticultura**. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, p. 61-145. 1991.
- IBGE. **Enciclopédia dos municípios brasileiros**. Rio de Janeiro, 1958.
- IBGE. **Censo demográfico**. 2010. Disponível em <[http:// www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br)>. Acesso em: 13 de agosto 2016.
- IBF. **Bioma mata atlântica**. 2000. Disponível em <<http://www.ibflorestas.org.br/bioma-mata-atlantica.html>>. Acesso em: 13 de agosto 2016.
- IBRAVIN. **Regiões produtoras**. 2010. Disponível em <<http://www.ibravin.org.br/Regioes-Produtoras>>. Acesso em: 13 de Agosto 2016.
- DE SOUZA, J.S.I. **Uvas para o Brasil**. 2ª edição, Edições Melhoramentos, São Paulo, p 13-45, 1969.
- EMBRAPA. **Uvas viníferas para processamento de clima temperado**. 2003. Disponível em <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/sprod/UvasViniferasRegioesClimaTemperado/tabcli-ma.htm>>. Acesso em: agosto de 13 de agosto 2016.
- EMBRAPA. **Histórico da Embrapa Uva e Vinho**. 2013. Disponível em <<http://www.cnpuv.embrapa.br/unidade/historico.html>>. acesso em: 20 de Agosto 2016.
- FEE. **Perfil socioeconômico de Bento Gonçalves**. 2015. Disponível em <<http://www.fee.rs.gov.br/perfil-socioeconomico/municipios/detalhe/?municipio=Bento+Gon%E7alves>>. Acesso em:20 de agosto 2016.
- MAIA,J. D. G.; NAVES, R. L.; GARRIDO, L. R.; SÔNEGO, O. R.; KUHN, G. B. **Cultivo de Videira Niágara Rosada em Regiões Tropicais do Brasil**. 2003. Disponível em

<<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvaNiagaraRosadaRegioesTropicais/doenca.htm>>. Acesso em: 25 de agosto 2016.

McCREADY, R. M.; GUGGOLZ, J.; SILVEIRA, V.; OWENS, H. S. **Determination of Starch and Amylose in Vegetables**. Anal. Chem., 1950, 22(9), p 1156-1158.

PREFEITURA MUNICIPAL DE BENTO GONÇALVES. **Uva**. 2015. Disponível em <<http://www.bentogoncalves.rs.gov.br/a-cidade/sobre-a-uva>>. Acesso em: 20 de agosto de 2016.

SEMA. **Bacia hidrográfica do rio taquari-antas**. 2010. Disponível em <http://www.sema.rs.gov.br/conteudo.asp?cod_menu=56&cod_conteudo=5868>. Acesso em: 13 de agosto 2016.

SINDIMOVEIS. **Empresas**. 2012. Disponível em <<http://www.sindmoveis.com.br/portal/empresas/>>. Acesso em 13 de agosto 2016.

STRECK, E.V. et al. **Solos do Rio Grande do Sul**. 2. ed. Porto Alegre, EMATER/RS-ASCAR, 2008. 222p.

VALLADARES, G. S. et al. **Solos da unidade experimental da EMBRAPA Uva e Vinho em Bento Gonçalves, RS**. 2005. Disponível em <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/106816/1/1776.pdf>>. Acesso em: 13 de agosto 2016.