

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

CARACTERIZAÇÕES HISTOLÓGICA E FISIOLÓGICA DO ATAQUE DE
PÉROLA-DA-TERRA (*Eurhizococcus brasiliensis* Wille, 1922) (HEMIPTERA:
MARGARODIDAE) EM VIDEIRAS

Anderson De Césaró
Tecnólogo em Viticultura e Enologia/Cefet-BG

Dissertação apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia
Área de Concentração Horticultura

Porto Alegre (RS), Brasil
Abril de 2008

Folha de homologação

À minha família, dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Paulo Vitor Dutra de Souza pela oportunidade, orientação, ensinamentos, seriedade e liberdade de trabalho.

Ao pesquisador Dr. Henrique Pessoa dos Santos pelo incentivo, co-orientação, ensinamentos, integridade e benevolência.

Ao pesquisador Dr. Marcos Botton pela incondicional disponibilidade.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela oportunidade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

À Embrapa Uva e Vinho pelo suporte físico e financeiro no desenvolvimento dos projetos de pesquisa.

Aos professores, funcionários e colegas do Departamento de Horticultura e Silvicultura da Faculdade de Agronomia/UFRGS pela acolhida, troca de experiências e ambiente de trabalho extremamente positivo.

Aos pesquisadores da Embrapa Uva e Vinho George Wellington de Melo, Flávio Bello Fialho, Luís Fernando Revers, Saulo de Jesus Soria, Umberto Almeida Camargo e Luis Antenor Rizzon.

Ao professor do PPG Botânica/UFRGS, Dr. Jorge Ernesto de Araujo Mariath, pelos ensinamentos e atenção, bem como ao doutorando Adriano Silvério.

Aos colegas do Laboratório de Fisiologia Vegetal/Embrapa Uva e Vinho João Felippetto, Ana Carolina Panceri, Emanuela Fin e Francine Zanatta.

Ao colega do Laboratório de Entomologia/Embrapa Uva e Vinho Wilson Morandi Filho.

A família do Sr. Ciro Pastorelo pela cessão dos vinhedos para realização dos experimentos e troca de experiências.

Ao Viveiro Regla, Sr. Ronaldo Regla pela doação da mudas de videira e empenho.

Colaboradores da Embrapa Uva e Vinho, ativos participantes na execução deste trabalho, Vanderlei Natal Gomes, Vânia Sganzerla, Volmir Scanagatta, Roque Antonio Zílio, Leodir Braghini, Kátia Hiwatashi, Fabio Baggio, Almir Argenta, Anevir Marin, Giorge Balotin, Janio Lazzarini, Valdair Debiasi e Sérgio Zarpelon.

Aos amigos, motivadores e fieis conselheiros Adriana Regina Corrent, Geraldo Luiz Chavarria Lamas Junior, Paula Radaelli, Rafael Anzanello, Ana Carolina Gonçalves Da Silva Nunes e Gustavo Brunetto.

Ao autor de uma das frases mais importantes a que eu tive acesso enquanto mestrando, um grande abraço amigo e Eng^o. Agr^o., M. Sc. Paulo Rene Gondim.

Às inúmeras pessoas e Instituições que prontamente contribuíram para a realização deste trabalho.

**CARACTERIZAÇÕES HISTOLÓGICA E FISIOLÓGICA DO ATAQUE DE
PÉROLA-DA-TERRA (*Eurhizococcus brasiliensis* Wille, 1922)
(HEMIPTERA: MARGARODIDAE) EM VIDEIRAS¹**

Autor: Anderson De César
Orientador: Paulo Vitor Dutra de Souza
Co-orientador: Henrique Pessoa dos Santos

RESUMO

A principal praga da videira no Brasil, *Eurhizococcus brasiliensis*, tem dificultado o cultivo, não só pelos danos causados e falta de controle eficaz, mas principalmente pela falta de informações sobre a interação com a videira. Existem várias hipóteses de como a pérola-da-terra mata uma videira, mas até o momento nenhuma teoria pôde ser comprovada. Com o objetivo de avançar no conhecimento da interação pérola-da-terra x videira, avaliou-se a anatomia de ninfas e tecidos radiciais infestados, comparou-se o desenvolvimento vegetativo e a fisiologia de plantas saudáveis e infestadas, desenvolvendo-se análises nas fases de viveiro e vinhedo adulto. Para melhor monitorar as alterações ocasionadas, as avaliações envolvendo tecidos foliares de plantas infestadas, foram subdivididas em folhas assintomáticas, cloróticas e necróticas. Observou-se até 3 estiletes em ninfas de pérola-da-terra e estes podem medir duas vezes o tamanho do corpo da pérola-da-terra. Na sua fase adulta a pérola-da-terra pode formar uma carapaça protetora, onde se percebe uma proliferação de tecido parenquimático na base, resultante de um meristema lateral reativo à presença do inseto. Contudo, a parte superior e principal da cápsula, que recobre a cochonilha é formada por uma secreção, possivelmente polissacarídica e protéica, de origem não vegetal. No segundo ano de cultivo no viveiro a pérola-da-terra reduziu drasticamente o desenvolvimento vegetativo de mudas da cv. Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*). Em plantas adultas da cv. Isabel (*Vitis labrusca*) a infestação por pérola-da-terra reduziu o desenvolvimento vegetativo, por afetar negativamente a taxa fotossintética e a quantidade de carboidratos nos tecidos.

¹Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (77p.) Abril, 2008.

HISTOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF THE GROUND PEARL (*Eurhizococcus brasiliensis* WILLE, 1922) (HEMIPTERA: MARGARODIDAE ATTACK IN GRAPEVINES)¹

Author: Anderson De Césaró
Adviser: Paulo Vitor Dutra de Souza
Co-adviser: Henrique Pessoa dos Santos

ABSTRACT

The main pest of the grapevine in Brazil, *Eurhizococcus brasiliensis*, has been making difficult the cultivation, not just by the damage and lack of effective control, but mainly by the lack of information about the interaction with the grapevine. There are many hypotheses on how the ground pearls kills the grapevine, but so far no theory has been proved. With the aim of advancing the knowledge of the interaction between the ground pearl x grapevine, the present work was evaluated the anatomy of the nymphs and the infested root tissues and compared the healthy and infested plants growing at the initial and the adult stages. In order to monitor the effects in leaves, leaves tissues from infested plants were subdivided into non-symptomatic, with chlorosis and with necrosis leaves. It was observed up to three stylets in nymphs of ground pearl and they can measure twice as longer as body of the ground pearl. In its adult phase, the ground pearl can form a protective carapace. This protection is formed by a parenchymatous tissue proliferation at the base, resulting from a lateral meristem reactive to the insect presence. However, the top and main part of the protective carapace, it is formed by a secretion, possibly made with polysaccharides and proteins, of non-vegetable origin. In the second year of cultivation in the nursery, the ground pearl reduced drastically the growing of the cv. Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*) seedlings. In adult plants of cv. Isabel (*Vitis labrusca*) the ground pearl reduced the development, because it affected negatively the photosynthetic rate and the carbohydrate reserve level in the tissues.

¹Master of Science dissertation in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (77p.) April, 2008.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
2.1 Classificação taxonômica e distribuição geográfica.....	7
2.2 Dispersão.....	8
2.3 Biologia.....	10
2.4 Sintomas e danos.....	13
2.5 Plantas hospedeiras.....	14
2.6 Controle.....	16
2.6.1 Resistência de plantas.....	16
2.6.2 Biológico.....	18
2.6.3 Cultural.....	19
2.6.4 Químico.....	19
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 Avaliações histológicas de raízes de videira infestadas por pérola-da-terra.....	22
3.2 Experimento 1: Avaliação do crescimento e desenvolvimento de mudas de videira infestadas por pérola-da-terra.....	24
3.3 Experimento 2: Respostas de plantas adultas de videira (cv. Isabel – <i>V. labrusca</i>) à presença de pérola-da-terra.....	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4.1 Avaliações histológicas de raízes de videira infestadas por pérola-da-terra.....	33
4.2 Experimento 1: Avaliação do crescimento e desenvolvimento de mudas de videira infestadas por pérola-da-terra.....	36
4.3 Experimento 2: Respostas de plantas adultas de videira (cv. Isabel – <i>V. labrusca</i>) à presença de pérola-da-terra.....	38
5 CONCLUSÕES.....	50
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
7 APÊNDICES.....	59

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1. Relação dos hospedeiros nos quais a pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>) já foi constatada. (Adaptado de Panizzi & Noal, 1971; Gallotti, 1976; Soria & Gallotti, 1986; Botton <i>et al.</i> , 2000; Teixeira, 2002).....	14
2. Laudo de análise do solo dos canteiros. Bento Gonçalves, RS, 2008.....	25
3. Laudo de análise do solo do vinhedo comercial. Bento Gonçalves, RS, 2008.....	27
4. Número de brotações (Nb), número de feminelas brotadas (Nfb), comprimento total das brotações (Ctb), massa fresca de ramos (Mfr) e massa seca de ramos (Msr) de videiras cv. Cabernet Sauvignon (<i>Vitis vinifera</i>) sadias e infestadas por pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>). Bento Gonçalves, 2007.....	37
5. Número total de folhas (Ntf), número total de folhas de feminelas (Ntff), área foliar média (Afm), área foliar média de folhas de feminelas (Afmf), conteúdo total de água na parte aérea (H ₂ O), massa fresca de folhas (Mff) e massa seca de folhas (Msf) de videiras cv. Cabernet Sauvignon (<i>Vitis vinifera</i>) sadias e infestadas por pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>). Bento Gonçalves, 2007.....	37
6. Comprimento médio do entrenó de ramos (Cme), diâmetro dos ramos (Ør), massa fresca de ramos (Mfr) e massa seca de ramos (Msr) de videiras cv. Isabel (<i>Vitis labrusca</i>) sadias e infestadas por pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>). Bento Gonçalves, 2007.....	38
7. Área foliar média, massas fresca e seca média de folhas de videiras cv. Isabel (<i>Vitis labrusca</i>) sadias e infestadas por pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>). Bento Gonçalves, 2007.....	39
8. Teores nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn) e boro (B) em folhas de videiras cv. Isabel (<i>Vitis labrusca</i>) sadias e infestadas por pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>). Bento Gonçalves, 2007.....	40

9. Teores de clorofilas α , β e totais em folhas de videiras cv. Isabel (<i>Vitis labrusca</i>) sadias e infestadas por pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>). Bento Gonçalves, 2007.....	41
10. Taxa fotossintética e condutância estomática em radiação fotossinteticamente saturante ($800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-2}$) em folhas de videiras cv. Isabel (<i>Vitis labrusca</i>) sadias e infestadas por pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>). Bento Gonçalves, 2007.....	42
11. Percentuais de amido, proteínas totais e aminoácidos totais em folhas de videiras cv. Isabel (<i>Vitis labrusca</i>) sadias e infestadas por pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>). Bento Gonçalves, 2007.....	44
12. Teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn) e boro (B), em duas épocas de amostragem, em raízes de videiras cv. Isabel (<i>Vitis labrusca</i>) sadias e infestadas por pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>). Bento Gonçalves, 2007.....	45
13. Teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn) e boro (B) em duas épocas de amostragem, em ramos de videiras cv. Isabel (<i>Vitis labrusca</i>) sadias e infestadas por pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>). Bento Gonçalves, 2007.....	46
14. Percentuais de amido, proteínas totais e aminoácidos totais, em duas épocas de amostragem, em raízes de videiras cv. Isabel (<i>Vitis labrusca</i>) sadias e infestadas por pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>). Bento Gonçalves, 2007.....	47
15. Percentuais de amido, proteínas totais e aminoácidos totais, em duas épocas de amostragem, em ramos de videiras cv. Isabel (<i>Vitis labrusca</i>) sadias e infestadas por pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>). Bento Gonçalves, 2007.....	47
16. Avaliações qualitativas e quantitativas dos frutos de videiras cv. Isabel (<i>Vitis labrusca</i>) sadias e infestadas por pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>). Bento Gonçalves, 2007.....	48
17. Teores de proteínas totais, aminoácidos totais, nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn) e boro (B) em frutos de videiras cv. Isabel (<i>Vitis labrusca</i>) sadias e infestadas por pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>). Bento Gonçalves, 2007.....	48

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1. Ciclo biológico da pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>) infestando plantas de videira nas condições edafoclimáticas da região Sul do Brasil. Adaptado de Hickel (1996).....	12
2. Folhas de videiras (<i>Vitis</i> sp.) de plantas sadia e infestada por pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>). Bento Gonçalves, 2008.....	28
3. Fotomicrografias de ninfas de pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>). a. detalhe dos estiletes parcialmente estendidos. b. detalhe dos estiletes retraídos dispostos em forma circular no abdome da ninfa. Porto Alegre, 2008.....	33
4. Fotomicrografia dos estiletes bucais de ninfa de pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>). Porto Alegre, 2008.....	34
5. Cápsula protetora de cisto de pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>) em raiz de videira (<i>Vitis labrusca</i>). Na fotomicrografia é possível visualizar apenas a cápsula protetora e não o inseto. Porto Alegre, 2008.....	35
6. Fotomicrografia mostrando o ponto de inserção da cápsula protetora de cisto de pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>) com uma proliferação meristemática lateral da raiz de videira (<i>Vitis labrusca</i>). Porto Alegre, 2008.....	35
7. Fotomicrografia dos estiletes de pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>) penetrando uma raiz de videira (<i>Vitis labrusca</i>) em direção ao floema. Porto Alegre, 2008.....	36
8. Avaliação da taxa fotossintética e condutância estomática em radiação fotossinteticamente saturante ($800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-2}$), em folhas de videiras cv. Isabel (<i>Vitis labrusca</i>), sadias e infestadas por pérola-da-terra (<i>Eurhizococcus brasiliensis</i>). Bento Gonçalves, 2007.....	43

RELAÇÃO DE APÊNDICES

	Página
1. Normal climatológica e dados meteorológicos registrados durante o ciclo vegetativo da videira, safra 2007. Bento Gonçalves, 2008.....	59
2. Protocolo para inclusão em Historesina-Jung.....	60
3. Coloração de lâminas com Coomassie blue.....	61
4. Preparo das bagas de uva para análise de teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, cobre, zinco, manganês e boro.....	62
5. Extração de amido.....	64
6. Extração de proteínas totais.....	67
7. Protocolo de extração de aminoácidos totais.....	70
8. Protocolo de extração de clorofilas.....	73
9. Determinação de sólidos solúveis totais (°Brix).....	75
10. Determinação do pH em mosto de uva.....	76
11. Determinação da acidez total titulável em mosto de uva.....	77

1 INTRODUÇÃO

Conforme o Cadastro Vitícola do Estado do Rio Grande do Sul, entre 1999 e 2004, houve um acréscimo de 33% na área plantada com vinhedos, chegando a 35.263 ha (Mello, 2005). Essa expansão tem ocorrido principalmente para atender a necessidade crescente de uvas, principalmente para processamento. Entretanto, na implantação e/ou renovação de vinhedos, muitos produtores têm encontrando limitações de ordem fitossanitária, as quais praticamente inviabilizam o cultivo em determinadas áreas (Kuhn *et al.*, 1996). Dentre os problemas fitossanitários, destaca-se a pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis* Wille, 1922, Hemiptera: Margarodidae) como o inseto-praga mais prejudicial à cultura, sendo responsável pelo declínio e morte de plantas de videira nas principais regiões produtoras (Hickel, 1996; Soria & Dal Conte, 2000). Além disso, deve-se salientar que em vinhedos infestados por pérola-da-terra, os danos causados pelo inseto são intensificados em anos com estiagens, fenômeno este que deve intensificar-se no Estado do Rio Grande do Sul, com base nos cenários previstos de mudanças climáticas (Defesa Civil do Estado do Rio Grande do Sul, 2008).

Além da pérola-da-terra ser um empecilho na implantação de novos vinhedos, há uma quantidade considerável de vinhedos instalados em locais ou regiões infestadas, visto que a mesma é de origem neotropical. Isto acarreta um custo de produção crescente, em detrimento de uma produtividade cada vez menor até o declínio completo do vinhedo.

O controle químico da pérola-da-terra na cultura da videira tem sido difícil, pois, além do elevado custo do único inseticida registrado para a cultura, não ocorre um controle satisfatório deste inseto. Dentre as razões da baixa eficiência do controle químico, salienta-se a incapacidade de atingir o inseto com o produto aplicado.

Devido a esta dificuldade de controle da pérola-da-terra, muitos produtores são obrigados a abandonar as áreas de cultivo. Com isso, regiões outrora tradicionalmente produtoras, como a região Norte do Rio Grande do Sul, atualmente não conseguem mais explorar economicamente esta cultura. Considerando que o setor vitivinícola é formado principalmente por pequenas propriedades e com mão-de-obra familiar, destaca-se que essa inviabilidade de cultivo resulta em grande impacto sócio-econômico nestas regiões.

Apesar da videira e diversas espécies apresentarem-se como suscetíveis ao ataque da pérola-da-terra, tem sido observado que algumas espécies nativas e/ou cultivadas apresentam aparente resistência a este inseto. Estas diferenças têm levantado alguns questionamentos, de ordem fisiológica, bioquímica e anatômica, de como ocorre a interação pérola-da-terra x videira. O avanço no conhecimento desta interação possivelmente irá

auxiliar no desenvolvimento de estratégias sustentáveis de controle, até o momento não disponíveis.

Entre os modelos de estudo de insetos fitófagos (semelhantes à pérola-da-terra) melhor caracterizados até o momento, estão as espécies de afídeos, da ordem Hemiptera (Miles, 1999). Com base nas características anatômicas intrínsecas desse grupo de hemípteros, observa-se que a pérola-da-terra apresenta o mesmo tipo de aparelho bucal sugador e, conseqüentemente, um hábito alimentar muito semelhante ao dos afídeos (Lima, 1942). Além disso, a pérola-da-terra pertence à subordem Sternorrhyncha (China & Miller, 1959), que é a mesma da Aphididae. Conseqüentemente, o avanço na compreensão dos hábitos alimentares de afídeos, especialmente da constituição bioquímica da saliva e seus efeitos no hospedeiro, servem como modelo na elaboração de estratégias e na condução dos estudos com a pérola-da-terra.

Os estudos das propriedades da saliva de afídeos têm possibilitado a caracterização de vários sintomas nos hospedeiros, sob os pontos de vista bioquímico e fisiológico. Dentre esses, destaca-se a manipulação que esses insetos exercem sobre os níveis de aminoácidos na seiva do floema, em favor da grande necessidade de compostos nitrogenados (Sandström *et al.*, 2000). Além disso, os afídeos podem promover mudanças qualitativas nos níveis de carboidratos (Holmes *et al.*, 1991), as quais podem resultar em alterações na distribuição e no acúmulo de reservas, e na expressão diferenciada de genes fotossintéticos em folhas, conforme a teoria do “sugar sensing” (Smeekens, 2000).

Os componentes proteicos da saliva de afídeos, regurgitados para o floema, podem se distribuir acrópeta ou basipetamente por toda a planta, ocasionando sintomas em locais distintos dos sítios de ataque do inseto (Madhusudhan & Miles, 1998). Entretanto, não apenas as proteínas da saliva, mas fragmentos do próprio hospedeiro, liberados pela ação enzimática da saliva, também podem ser moléculas que desempenham efeitos sistêmicos na planta. Esse é o caso da ação das pectinases que atuam sobre a lamela média das paredes celulares para facilitar a passagem do estilete bucal nos tecidos vegetais (Ma *et al.*, 1990). Durante esse processo, a ação das pectinases libera fragmentos de pectinas, os oligogalacturonídeos, os quais são considerados moléculas sinalizadoras (Albersheim & Darvill, 1985) e indutoras da liberação e/ou síntese de compostos de defesa. A maior ou menor liberação de fragmentos ativos, bem como o tipo de fragmento gerado, dependem das características químicas e estruturais das pectinas presentes no tecido atacado e da atividade hidrolítica das pectinases liberadas (Braga *et al.*, 1993). O padrão de metilesterificação das pectinas tem influência direta sobre o modo de ação de pectinases (Sakai *et al.*, 1993) e, conseqüentemente, na liberação de fragmentos que possuem grau de polimerização ≥ 12 , os quais são os mais ativos indutores da síntese de fitoalexinas em plantas (Nothnagel *et al.*, 1983).

De modo geral, a ação sistêmica provocada pelos componentes da saliva dos hemípteros pode ser muito complexa e variável entre insetos e hospedeiros, podendo determinar a susceptibilidade de um hospedeiro a um

determinado inseto, como é o caso da relação pérola-da-terra/videira. De acordo com Miles (1999), a ação salivar dos hemípteros pode determinar não só a severidade do dano, mas também a capacidade de ataque a certos hospedeiros. Desse modo, o conhecimento das alterações bioquímicas e fisiológicas nas plantas, provocadas pelo ataque destes insetos sugadores, apresenta-se como um fator chave na caracterização e seleção de plantas de videiras resistentes, bem como na identificação do modo de ação da pérola-da-terra que causa o declínio dessas plantas, o que até o momento se desconhece.

Apesar do conhecimento da sintomatologia de plantas de videira atacadas por pérola-da-terra (Botton *et al.*, 2000), não existe uma descrição de como os sintomas se manifestam. Até o momento, acredita-se que o definhamento das plantas atacadas se deve a sucção da seiva e/ou a uma ação toxicogênica em decorrência da incompatibilidade bioquímica entre o inseto e o hospedeiro. Essa suposição é corroborada pela origem neotropical da cochonilha e pela origem neártica (americana) ou paleártica (européia) das plantas de videira.

Partindo-se da premissa de que pouca ou nenhuma informação foi gerada sobre a fisiologia, a bioquímica e a anatomia do ataque da pérola-da-terra em plantas de videira, visto que a maioria dos trabalhos anteriores objetivou o controle direto da pérola-da-terra, pode-se supor que, com base nos resultados obtidos, será possível gerar informações básicas para o desenvolvimento de metodologias alternativas e eficazes para o controle da pérola-da-terra. Estudos neste sentido são de vital importância para se

conhecer a praga e, conseqüentemente, avançar no objetivo de controle dessa cochonilha, que tem proporcionado grandes prejuízos de ordem social e econômica nas regiões vitivinícolas do Brasil.

Sendo assim, o presente trabalho tem como objetivos, obter uma descrição dos tecidos radiciais atacados em plantas de videira, bem como uma caracterização fisiológica dos efeitos provocados pela pérola-da-terra.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Classificação taxonômica e distribuição geográfica

A pérola-da-terra *Eurhizococcus brasiliensis* (Wille, 1922) (Hemiptera: Margarodidae) foi constatada pela primeira vez em agosto de 1921, por Celeste Gobbato, na localidade de Silveira Martins, então município de Santa Maria, Rio Grande do Sul e classificada primeiramente como *Margarodes brasiliensis* por (Wille, 1922). Passando posteriormente por diversas nomenclaturas e reclassificações: *Margarodes brasiliensis* Hempel por (Costa Lima, 1924), *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel) (Silvestri, 1936), *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel) (Jakubski, 1965), *Margarodes soriai* (Foldi, 1987) e finalmente para *Eurhizococcus brasiliensis* (Wille) (Foldi, 2005). Hempel é constantemente citado como autor, mas este apenas sugeriu o nome de *Margarodes brasiliensis* à J. Wille, que descreveu a espécie e publicou em 1922 (Foldi, 2005).

A pérola-da-terra encontra-se distribuída por toda a região vitícola tradicional do Estado do Rio Grande do Sul, englobando a região da Serra Gaúcha (Soria, 1986; Secchi, 2001), Santa Maria (Wille, 1922) e Passo

Fundo (Panizzi & Noal, 1971). Até o presente momento, ainda não há relatos da presença de pérola-da-terra nas novas regiões vitícolas do Rio Grande do Sul, como a Serra do Sudeste e a Campanha Gaúcha.

Fora do Rio Grande do Sul, a pérola-da-terra tem sido encontrada em Santa Catarina, na microrregião colonial do Rio do Peixe (Matos & Schuck, 1988; Milanez, 2001); no Paraná, nos municípios de Rio Negro (Figueira Júnior, 1970) e Curitiba (Gallotti, 1976, Morales, 2001).

Em São Paulo foi observada pela primeira vez em 1960, infestando cana-de-açúcar no município de Santa Rita do Passa Quatro e Guareí (Novo, 1978) e Louveira (Lourenção *et al.*, 1989). Mais recentemente, a pérola-da-terra também foi encontrada na região do Vale do São Francisco nos Estados de Pernambuco e Bahia, principalmente em áreas de cana-de-açúcar e videira (Haji & Alencar, 2000).

2.2 Dispersão

A disseminação à longas distâncias da pérola-da-terra pode ocorrer por vários meios, sendo o homem responsável pela maioria deles. Esta dispersão pode ocorrer através do solo retido nos calçados, nas enxadas e em implementos agrícolas, quando há movimentação de um parreiral para outro. Porém, o principal meio de dispersão é através da movimentação de mudas enraizadas e infestadas pela praga (Mariconi & Zamith, 1973).

Na dispersão a curtas e médias distâncias destacam-se as formigas doceiras, principalmente a *Linepithema humile* Mayr, a qual associa-se aos

cistos de pérola-da-terra em busca de excrementos açucarados (protocooperação). Apesar de hemípteros sugarem grandes quantidades de seiva das plantas, apenas a quantidade de nutrientes necessária à sobrevivência e desenvolvimento é retida, sendo o restante eliminado (Delabie, 2001). E é exatamente este líquido eliminado, rico em sacarídeos, que é aproveitado pelas formigas como fonte alimentícia (Sacchett, 2006). Além disso, os hemípteros mirmecófilos (aqueles que estabelecem relações de protocooperação com as formigas) são defendidos pelas formigas que agem diretamente sobre os inimigos naturais e, até mesmo, constroem abrigos sobre as colônias de hemípteros (Fowler *et al.*, 1991)

Desta associação, resulta um aumento da dispersão da praga dentro e fora do parreiral, pois as formigas transportam as ninfas móveis recém-eclodidas até as raízes de plantas hospedeiras (Delabie, 2001), adotando-as como suas próprias crias (Hickel, 1994).

Soria & Moraes (1997), observaram as seguintes espécies de formigas associadas à pérola-da-terra na cultura da videira no Estado do Rio Grande do Sul: *Dorymyrmex* sp.; *Linepithema humile* (Mayr, 1866), *Brachymyrmex* sp.; *Camponotus blandus* (Smith, 1858); *Camponotus crassus* (Mayr, 1862); *Camponotus melanoticus* (Emery, 1894); *Camponotus renggeri* (Emery, 1894); *Camponotus rufipes* (Fabricius, 1775); *Camponotus* sp.; *Paratrechina fulva* (Mayr, 1862); *Acromyrmex crassispinus* (Forel, 1909); *Crematogaster* sp.; *Pheidole aberrans* (Mayr, 1868); *Pheidole megacephala* (Fabricius, 1793); *Pheidole triconstricta* (Forel, 1886); *Solenopsis saevissima* (Smith, 1855); *Wasmannia auropunctata* (Roger, 1863); *Hypoponera* sp.;

Prionopelta sp.; *Pseudomyrmex* sp.; sendo que a espécie encontrada com maior frequência foi a *L. humile* (Mayr, 1866).

2.3 Biologia

A pérola-da-terra é uma cochonilha subterrânea que ataca as raízes de plantas cultivadas e silvestres. Uma vez instalada, a cochonilha penetra seus estiletes no sistema radicial da planta hospedeira, onde inicia a alimentação, sugando a seiva da hospedeira.

Visto que os adultos são desprovidos de aparelho bucal, a pérola-da-terra é prejudicial às plantas somente no primeiro, segundo e terceiro ínstars (Soria & Gallotti, 1986). Esta cochonilha se reproduz principalmente através de partenogênese telítoca apresentando uma geração por ano e multiplicando-se na ordem aproximada de 300 indivíduos a partir de cada cisto.

A fase de cisto com ovos, que na região Sul do Brasil ocorre de outubro a março, caracteriza-se por possuir cor branco-acinzentada que, quando repleto de ovos, torna-se frágil e quebradiço, rompendo-se para liberar os ovos e ninfas de primeiro ínstar. Neste período, que ocorre de novembro a março, as ninfas recém eclodidas pressionam e rompem as paredes frágeis do cisto. A fase de primeiro ínstar é móvel e desloca-se de forma ativa até encontrar uma raiz para se fixar e alimentar (Gallotti, 1976; Foldi, 1990; Hickel, 1998; Botton *et al.*, 2000; Soria & Dal Conte, 2000).

A partir do segundo ínstar, as ninfas já fixadas nas raízes perdem as pernas e encerram-se no interior da sua cutícula, que converte-se numa cápsula protetora, assumindo formato esférico. A ninfa de terceiro ínstar atinge o máximo de crescimento nos meses de outubro e novembro, possui formato globoso, de coloração amarela, sendo por isso denominada de pérola-da-terra. O completo desenvolvimento das ninfas geralmente culmina com a partenogênese telítoca ou então a fêmea rompe o cisto para subir à superfície como fêmea móvel para um eventual acasalamento (reprodução sexuada), retornando, em seguida, para o interior do solo. Embora pouco comum, na reprodução sexuada, esporadicamente, os insetos podem apresentar uma fase de pré-pupa, pupa e originar machos alados que vivem no máximo dois dias com a função de copular as fêmeas móveis (Hickel, 1998; Soria & Dal Conte, 2000) (Figura 1). Poucas informações encontram-se disponíveis sobre o que ocorre com as fêmeas móveis após a fecundação, bem como os fatores que levam ao aparecimento de machos na espécie (Foldi, 1990).

Nos meses mais frios, mesmo com plantas de videira em repouso vegetativo, as ninfas de segundo e terceiro ínstar da pérola-da-terra não interrompem o desenvolvimento, caracterizando ausência de dormência ou diapausa (Hickel, 1998), o que contribui ativamente para o definhamento da planta.

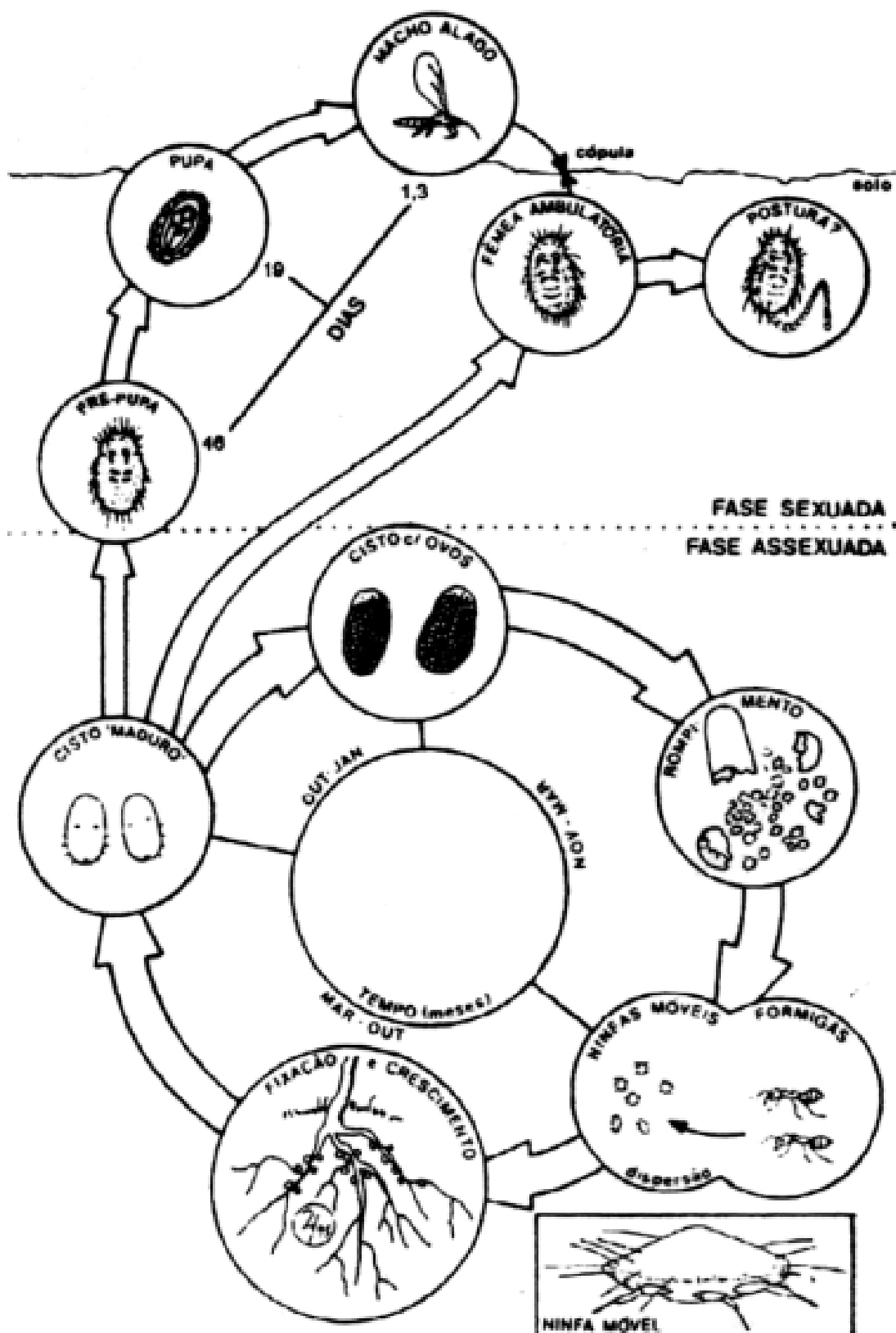


FIGURA 1. Ciclo biológico da pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*) infestando plantas de videira nas condições edafoclimáticas da região Sul do Brasil. Adaptado de Hickel (1996).

2.4 Sintomas e danos

A sucção da seiva efetuada pela praga nas raízes da planta hospedeira provoca um definhamento progressivo da videira, com redução da produção e conseqüente morte das plantas. Em videiras adultas, as folhas ficam cloróticas entre as nervuras de maneira similar à deficiência de magnésio, encarquilham, ocorrendo em alguns casos, queimaduras nas bordas (Hickel, 1998). Plantas com estes sintomas, geralmente apresentam baixo vigor, entrenós curtos, entram em declínio e morrem. Geralmente, no primeiro ano após o plantio, as plantas desenvolvem-se normalmente e atingem no segundo ano, uma brotação fraca e desuniforme, ocorrendo a morte a partir do terceiro ano. Plantas adultas, possivelmente por possuírem o sistema radicial mais desenvolvido, demoram mais para morrer (Botton *et al.*, 2000). Estes sintomas costumam ser atribuídos a toxinas que supostamente são injetadas nos tecidos vasculares da videira (Haji *et al.*, 2004).

Apesar de haver esta descrição dos sintomas de plantas atacadas pela pérola-da-terra, até o presente momento não se dispõe de informações de como se manifestam estes sintomas. Neste sentido, destaca-se que não há uma descrição do que pode ser causa ou conseqüência, na evolução de cada sintoma.

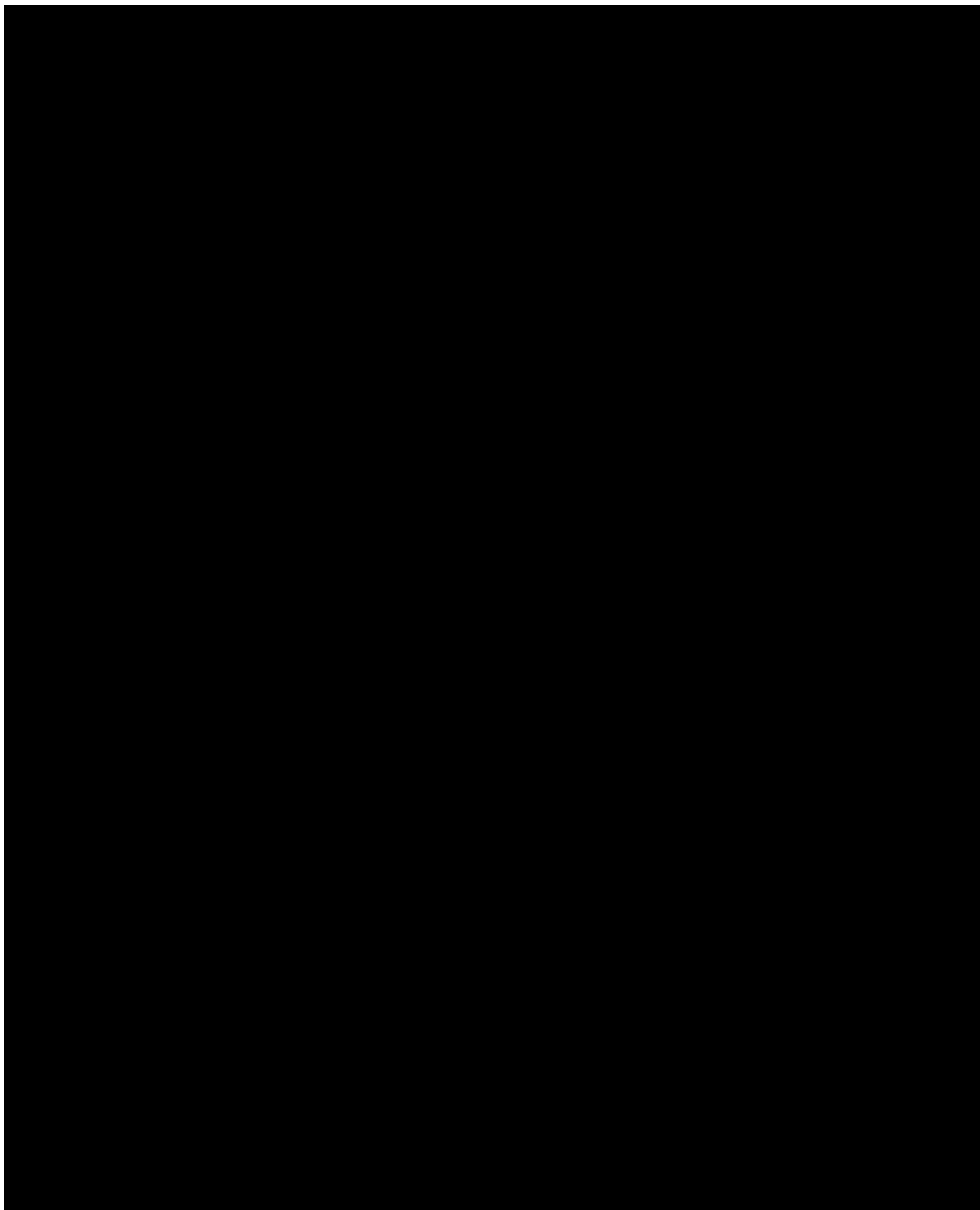
2.5 Plantas hospedeiras

Inúmeras espécies de plantas cultivadas e silvestres foram relatadas como hospedeiras da pérola-da-terra (Panizzi & Noal, 1971; Gallotti, 1976; Soria & Gallotti, 1986; Botton *et al.*, 2000; Teixeira, 2002). A de maior importância econômica é a videira (Tabela 1).

TABELA 1. Relação dos hospedeiros nos quais a pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*) já foi constatada. (Adaptado de Panizzi & Noal, 1971; Gallotti, 1976; Soria & Gallotti, 1986; Botton *et al.*, 2000; Teixeira, 2002).

Espécie	Nome científico	Família
Aboboreira	<i>Cucurbita pepo</i> L.	Cucurbitaceae
Alecrim	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Lamiaceae
Alface	<i>Lactuca sativa</i> L.	Asteraceae
Almeirão, Chicória	<i>Chicorium endivia</i> L.	Asteraceae
Amarilis	<i>Amaryllis</i> sp. L.	Amaryllidaceae
Ameixeira	<i>Prunus domestica</i> L.	Rosaceae
Amendoim	<i>Arachis hypogaea</i> L.	Fabaceae
Amora	<i>Morus nigra</i> , <i>Morus alba</i> L.	Moraceae
Azedinha	<i>Oxalis articulata</i> Pink-sorrel.	Oxalidaceae
Batata doce	<i>Ipomoea batatas</i> Lam.	Convolvulaceae
Batatinha	<i>Solanum tuberosum</i> L.	Solanaceae
Brinco-de-princesa	<i>Fuchsia</i> sp. Plum.	Onagraceae
Camomila	<i>Matricaria recutina</i> L.	Asteraceae
Cana-de-açúcar	<i>Saccharum officinarum</i> L.	Poaceae
Capim de folha larga	<i>Digitaria</i> sp. L.	Poaceae
Carqueja	<i>Baccharis trimera</i> DC.	Asteraceae
Carurú-bravo	<i>Phytolacca decandra</i> L.	Phytolaccaceae
Castanheira portuguesa	<i>Castanea vesca</i> Gaerth	Fagaceae
Cenoura	<i>Daucus carota</i> L.	Apiaceae
Cerejeira	<i>Prunus cerasus</i> L.	Rosaceae
Chuchuzeiro	<i>Sechium edule</i> Swartz	Cucurbitaceae
Chorão	<i>Salix humboldtiana</i> Kunth	Salicaceae
Cinamomo	<i>Melia azedarach</i> L.	Meliaceae
Cipó-de-veado	<i>Polygonum convolvulus</i> L.	Polygonaceae
Craveiro	<i>Dianthus caryophyllus</i> L.	Caryophyllaceae
Crisântemo	<i>Chrysanthemum</i> sp. L.	Asteraceae
Dália	<i>Dahlia</i> sp. L.	Asteraceae
Erva-de-bicho	<i>Polygonum</i> sp. L.	Poligonaceae
Erva lanceta	<i>Solidago microglossa</i> DC.	Asteraceae
Erva mate	<i>Ilex paraguayensis</i> St.Hil.	Aquifoliaceae
Eucalipto	<i>Eucalyptus</i> spp. L'Hér.	Myrtaceae
Figueira	<i>Ficus carica</i> L.	Moraceae
Funcionária	<i>Gazania ringens</i> L.	Asteraceae

continuação TABELA 1. Relação dos hospedeiros nos quais a pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*) já foi constatada. (Adaptado de Panizzi & Noal, 1971; Gallotti, 1976; Soria & Gallotti, 1986; Botton *et al.*, 2000; Teixeira, 2002).



2.6 Controle

2.6.1 Resistência de plantas

É sabido que as plantas desenvolveram alguns padrões de defesa contra o ataque de insetos ou pragas como a pérola-da-terra, os quais podem ser químicos (aleloquímicos), ou físicos, como pêlos e parênquima mais espesso (Buckley & Gullan, 1991).

Dentre os métodos de controle de insetos, a resistência de plantas é considerado um dos mais promissores. Até o momento, observações de campo indicam que a cultivar Magnólia (*Vitis rotundifolia* M.) é resistente a *E. brasiliensis* (Soria *et al.*, 1993). Colletta & Botton (2001), avaliando cultivares de videira à resistência de pérola-da-terra, observaram que além da Magnólia, outras variedades de *V. rotundifolia* foram significativamente menos infestadas pela pérola-da-terra, em relação ao porta-enxerto 101.14, indicando resistência do tipo antixenose/antibiose nestes genótipos. Devido, possivelmente, ao vigor elevado das cultivares de *V. rotundifolia*, foi observado que a resistência do tipo tolerância também encontra-se presente.

V. rotundifolia vem sendo empregada mundialmente como fonte de resistência a problemas fitossanitários da videira principalmente, nematóides e filoxera (Olmo, 1986; Kellow *et al.*, 2002). Nesse sentido, embora as cultivares desta espécie apresentem problemas agrônômicos como maturação desuniforme e dificuldades na propagação, os frutos podem ser

empregados na elaboração de sucos, vinhos e geléias, além de ser indicado para consumo “in natura” (Olien, 1990).

O emprego de *V. rotundifolia*, do subgênero *Muscadinia* ($2n = 40$) diretamente como porta-enxerto para cultivares *Vitis vinifera* L. e *Vitis Labrusca* L. do subgênero *Euvitis* ($2n = 38$), não tem sido possível por falta de compatibilidade de enxertia entre essas espécies (Schuck *et al.*, 1993). Além das diferenças cromossômicas, existem características morfológicas e anatômicas importantes entre os subgêneros de *Vitis*. Por exemplo, nos ramos de *Euvitis* há diafragmas interrompendo a medula em cada nó, o que não ocorre em *Muscadinia*, sendo sua medula contínua. A casca das videiras é estriada, exceto em *Muscadinia*, que apresenta lenticelas sobre a casca lisa.

Apesar destas diferenças, é possível a utilização de híbridos interespecíficos de *V. rotundifolia* x espécies do subgênero *Euvitis*, cuja compatibilidade de enxertia já foi comprovada (Olmo, 1986; Mullins *et al.*, 1992). Alguns híbridos resultantes destes cruzamentos como NC66C196-3, NC66C203-9, NC66C206-3p, NC66C203-8, 43-43 e 39-16 mostraram-se promissores na resistência a *E. brasiliensis* e são compatíveis com cultivares de ampla aceitabilidade comercial no Brasil (Soria *et al.*, 1994; Schuck *et al.*, 2001). Entretanto, recentes observações indicam que mesmo estes materiais podem definhar, dependendo do grau de infestação por pérola-da-terra que o local apresenta. Além disso, apresentam alta fragilidade a fungos de solo em condições de elevada umidade.

Recentemente, Bernd *et al.* (2007) testaram protocolos de micropropagação para porta-enxertos híbridos resultantes do cruzamento da cv. Isabel (*V. labrusca*) e da var. Magnólia (*V. rotundifolia*), tidos como resistentes em campo naturalmente infectado por pérola-da-terra. Estes porta-enxertos ainda não estão disponíveis comercialmente e, são resultado do programa de melhoramento genético da Embrapa Uva e Vinho.

2.6.2 Biológico

No controle biológico da pérola-da-terra, destaca-se o fungo entomopatogênico *Paecilomyces fumosoroseus* W. Em experimentos de laboratório foi obtido um controle de 95% na concentração de 10^6 conídios.ml⁻¹ e de 100% com 10^8 conídios.ml⁻¹ (Gomes & Soria, 1992). Porém, isto não é utilizado, pois não apresenta aplicabilidade a campo.

Os nematóides entomopatogênicos também foram testados para o controle da pérola-da-terra. Nestes testes foi utilizada o *Steinernema carpocapsae* W. que proporcionou 100% de mortalidade de fêmeas ambulatórias em laboratório (Hickel & Schmitt, 1997). Entretanto, como apenas 25% da população de cistos aptos à reprodução resulta em fêmeas móveis livres no solo e 75% dos cistos evoluem para a fase reprodutiva, sem que as fêmeas abandonem o invólucro protetor, tem-se dificuldade para emprego deste nematóide (Hickel & Schmitt, 1997).

O principal predador da pérola-da-terra é a mosca *Prolepsiis lucifer* (Diptera: Asyilidade), sendo que a larva de primeiro ínstar penetra nos cistos,

alimentando-se da fêmea e ovos. Foi observado que o predador apresenta o ciclo semelhante ao da pérola-da-terra (univoltino); porém não efetua controle em nível econômico. Apesar da mosca se desenvolver em laboratório, até o momento não foi possível obter o acasalamento e a reprodução da mesma (Soria & Mello, 1998).

2.6.3 Cultural

Uma alternativa para reduzir a população de pérola-da-terra é o revolvimento do solo, indicado para viveiros de mudas, onde o dano da cochonilha pode provocar a morte das plantas jovens (Oliveira *et al.*, 1971). Além disso, destaca-se que a eliminação de ervas daninhas constitui-se uma prática cultural importante no controle populacional do inseto, visto que algumas ervas espontâneas como a língua-de-vaca (*Rumex* sp.) se apresentaram como um reservatório natural de pérola-da-terra e devem ser eliminadas do parreiral (Gobbato, 1940; Costa, 1958; Panizzi & Noal, 1971; Gallotti, 1976). De modo geral, estas práticas, não se apresentaram eficazes, pois não impedem a reinfestação da área e o ataque das videiras pela pérola-da-terra.

2.6.4 Químico

Devido ao hábito subterrâneo do inseto, aliado ao desenvolvimento na forma de cisto, o uso de produtos químicos não tem atuado com eficiência no controle da pérola-da-terra. Inseticidas sistêmicos na formulação

granulada, aplicados no solo, não demonstraram controle suficiente para evitar danos às plantas de videira (Soria & Gallotti, 1986; Matos & Soria, 1990).

Estudos visando o controle químico do inseto com o emprego de inseticidas carbamatos e fosforados, aplicados no solo, na formulação granulada, proporcionaram índices de controle máximo de 60%, o que não impede que ocorram danos e reinfestação aos vinhedos (Oliveira *et al.*, 1971; Gallotti, 1976; Grigolletti & Soria, 1999; Soria & Dal Conte, 2000). O inseticida sistêmico vamidothion (Kilval 300 CE[®]), aplicado via foliar, foi o único que apresentou controle satisfatório (Soria & Braghini, 1999), porém este produto foi retirado do mercado.

Resultados promissores no controle da pérola-da-terra na cultura da videira foram observados com o inseticida neonicotinóide imidacloprid (Botton *et al.*, 1999) e através da veiculação de inseticidas via irrigação por encharcamento com o fosforado Methidathion (Hickel *et al.*, 2001).

A aplicação dos inseticidas neonicotinóides, imidacloprid e tiametoxam, resultaram num controle satisfatório da praga visando o cultivo da videira em áreas infestadas pelo inseto (Teixeira, 2002), porém esses princípios ativos não são registrados para a cultura da videira.

Embora estes resultados experimentais com inseticidas pareçam promissores, na prática sabe-se que o controle da pérola-da-terra com inseticidas é insatisfatório, pela incapacidade de se atingir toda a população do inseto no ambiente subterrâneo além, de um cisto ter a capacidade de

gerar 300 indivíduos, em longo prazo o controle químico torna-se ineficiente e oneroso para o setor vitivinícola.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios de campo foram conduzidos em canteiros (mudas) localizados na sede da Embrapa Uva e Vinho e, em vinhedo comercial (plantas adultas) de propriedade da família Pastorelo, no distrito de Pinto Bandeira, ambos em Bento Gonçalves, RS.

A parte analítica foi conduzida no Laboratório de Fisiologia Vegetal e Laboratório de Análise de Solos e Tecidos da Embrapa Uva e Vinho, localizados na cidade de Bento Gonçalves, RS; no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Botânica e no Laboratório de Análises de Solos e Tecidos do Departamento de Solos, ambos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em Porto Alegre, RS.

3.1 Avaliações histológicas de raízes de videira infestadas por pérola-da-terra

Pedaços de raízes atacadas (com a presença do inseto) e não atacadas foram coletadas e levadas ao laboratório.

Os tecidos coletados foram fixados em fixador Trump (glutaraldeído 1% e formaldeído 4% em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 6,8) com aplicação de vácuo por 12 horas em temperatura ambiente. Deste material, selecionou-se algumas seções de raízes para desidratação e inclusão. Devido a dificuldade de se trabalhar com material lignificado, efetuou-se pequenos cortes para aumentar a exposição dos tecidos alvo ou ainda para diminuir a camada encapsulante que envolvia e protegia o inseto, com o intuito de facilitar a inclusão.

A desidratação em série etílica crescente foi feita lentamente, devido a dureza do material e incluído em hidroxietilmetacrilato (Historesina-Jung).

Os blocos foram então seccionados a 5 μ m de espessura em micrótomo de rotação Mikron Zeiss, e os cortes montados sobre lâminas de vidro. As lâminas de vidro com os cortes contendo a camada protetora de cisto de pérola-da-terra (cápsula) foram expostas ao corante "coomassie blue" por 30 segundos e então, enxaguadas em água destilada. Este corante produz azul violáceo quando revela amostra rica em proteínas.

Outra fração do material fixado teve as ninfas separadas das raízes e colocadas diretamente sobre lâminas de vidro para avaliação. As observações e fotomicrografias foram realizadas em microscópio óptico Leica DMR.

3.2 Experimento 1: Avaliação do crescimento e desenvolvimento de mudas de videira infestadas por pérola-da-terra

Selecionaram-se dois canteiros de alvenaria de 11,4 m por 0,82 m e 0,9 m de altura, previamente infestados com pérola-da-terra. Num destes, com o intuito de considerá-lo como controle (sem pérola-da-terra), fez-se a movimentação da camada superficial de solo (0-30 cm) e sua posterior fumigação com brometo de metila, à fim de eliminar a presença do inseto. O solo do canteiro permaneceu coberto com lona plástica por sete dias e depois de removida a lona, revolveu-se novamente o solo. Além da fumigação, uma pasta aderente (Formifu[®], Matecma) foi aplicada nas bordas internas deste canteiro para evitar a entrada de formigas que pudessem dispersar a pérola-da-terra.

No outro canteiro, em que se desejou a presença do inseto, ao longo de outubro de 2006 até dezembro de 2007 os cistos de pérola-da-terra foram recolhidos em vinhedos comerciais infestados e adicionados a este para aumentar a quantidade de *E. brasiliensis* no canteiro e aumentar as chances de ataque. A camada superficial de solo sofreu revolvimento mínimo para preservar os possíveis cistos de pérola-da-terra que já estavam presentes.

O solo dos dois canteiros foi amostrado e analisado quimicamente quanto à fertilidade, antes do plantio das mudas (Tabela 2), para evitar-se desigualdades de disponibilidade de nutrientes. Pelos resultados, não houve necessidade de correções e adubações.

TABELA 2. Laudo de análise do solo dos canteiros. Bento Gonçalves, RS, 2008.

No dia 4 de setembro de 2006 efetuou-se o plantio de 20 mudas de Cabernet Sauvignon (*V. vinifera* L.) por canteiro, enxertadas sobre porta-enxerto Paulsen 1103 (*Vitis berlandieri* P. x *Vitis rupestris* S.).

O espaçamento entre plantas foi de 30 cm x 30 cm. Para garantir a ausência do inseto no canteiro não infestado, fez-se, além do expurgo do solo com brometo de metila, duas aplicações do inseticida neonicotinóide tiametoxam, marca comercial Actara 10GR[®]; sendo uma em dezembro de 2006 e a outra em fevereiro de 2007, aplicou-se a dose de 150 gr por m² em cada aplicação.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo a unidade experimental cada planta (muda), com 10 repetições e os tratamentos, solo infestados e solo não infestado (testemunha).

Em função de não apresentar infestação no primeiro ano de cultivo, as plantas foram amostradas apenas em janeiro de 2008, estando, assim, no segundo ciclo.

Dez plantas de cada tratamento foram colhidas e fracionadas em folhas de ramo (broto originário de uma gema formada no ciclo anterior), folhas de feminela (broto originário de uma gema secundária que vegeta no mesmo ano em que é formada) e ramos. O sistema radicial foi parcialmente arrancado com a finalidade de identificar a presença de cistos de pérola-da-

terra. Devido a não infestação no primeiro ciclo, o espaçamento empregado demonstrou-se demasiadamente adensado para o arranquio do sistema radicial, visto que as plantas encontravam-se muito desenvolvidas neste segundo ciclo.

Nestas amostragens, determinou-se o número e a área foliar de folhas principais e de folhas de feminelas de cada planta utilizando-se um medidor de área foliar Li-Cor, modelo LI-3100. O número e comprimento das brotações principais e o número de brotações laterais também foram avaliados, bem como as massas fresca e seca de folhas, feminelas e ramos.

A massa fresca de cada fração da planta foi obtida pesando-se o material logo após a coleta. Posteriormente, este material foi devidamente embalado, identificado e seco em estufa com circulação forçada de ar a 60°C até atingir peso constante.

A análise estatística foi feita utilizando-se o software R (2008). Os resultados obtidos nas variáveis analisadas foram submetidos à análise de variância, sendo as médias das plantas sadias comparadas com as médias das infestadas usando o teste t.

3.3 Experimento 2: Respostas de plantas adultas de videira (cv. Isabel – *V. labrusca*) à presença de pérola-da-terra

O experimento foi realizado em um vinhedo comercial localizado no distrito de Pinto Bandeira, cidade de Bento Gonçalves, RS, da cultivar Isabel (*V. labrusca*), que estava no terceiro ano de cultivo. O acompanhamento se deu durante o ciclo vegetativo 2006/07.

No dia 9 de outubro de 2006 foram selecionadas 10 plantas com sintomas, no dossel vegetativo, relacionados ao ataque por pérola-da-terra e 10 plantas sem sintomas foliares de infestação. A seleção foi também baseada pela investigação visual da presença ou ausência do inseto no sistema radicial. Nas plantas sem ataque de pérola-da-terra foi aplicado 150 g por planta do inseticida neonicotinóide tiametoxam, marca comercial Actara 10GR[®], nesta ocasião, repetida em dezembro de 2006 e em fevereiro de 2007.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento e unidades experimentais constituídas por duas plantas, totalizando 20 plantas no experimento.

Para determinar-se a homogeneidade da fertilidade do solo, coletou-se uma sub-amostra da base de cada planta selecionada e destas, obteve-se uma amostra de solo do grupo de plantas sadias e outra amostra de solo do grupo de plantas infestadas, procedendo-se a análise química, que demonstrou a igualdade de disponibilidade de nutrientes entre as amostras, não necessitando de correções e adubações, conforme pode ser visualizado na Tabela 3.

TABELA 3. Laudo de análise do solo do vinhedo comercial. Bento Gonçalves, RS, 2008.



As plantas em presença e ausência de pérola-da-terra foram submetidas às análises fisiológicas, químicas e morfológicas.

Nas plantas infestadas, classificou-se visualmente o grau de sintomatologia foliar com os seguintes índices: atribuiu-se o índice 1 para folhas de plantas saudáveis; para folhas assintomáticas de plantas infestadas atribuiu-se o índice 2; para folhas cloróticas de plantas infestadas, índice 3 e, para as folhas necróticas de plantas infestadas, índice 4 (Figura 2). Esta classificação foi determinada quinzenalmente, entre os meses de novembro a janeiro de 2007.

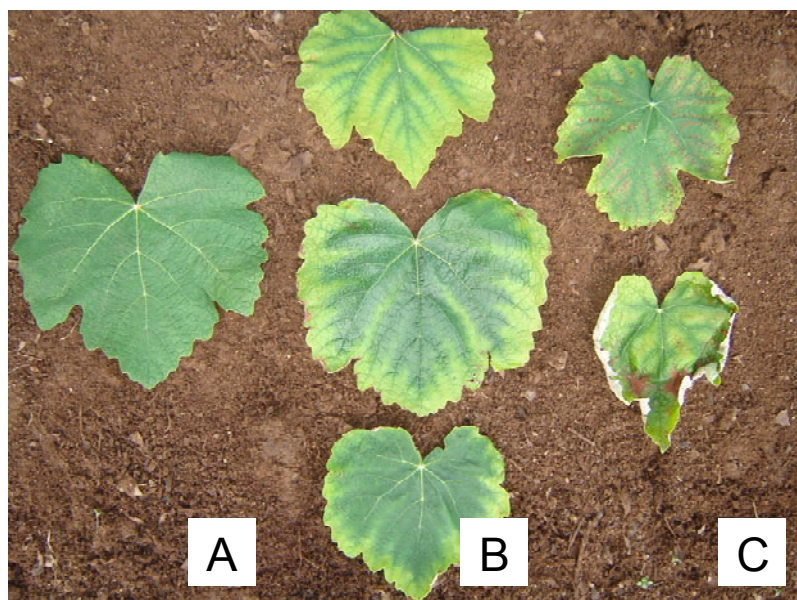


FIGURA 2. Folhas de videiras (*Vitis* sp.) de plantas saudáveis e infestadas por pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*). Bento Gonçalves, 2008.

¹(A) folha de planta saudável (índice 1) ou assintomática de planta infestada (índice 2).

²(B) folhas cloróticas de planta infestada (índice 3).

³(C) folhas necróticas de planta infestada (índice 4).

Entre as 13h00min e 15h30min do dia 23 de março de 2007, folhas foram analisadas quanto à taxa fotossintética e a condutância estomática, em radiação fotossinteticamente saturante ($800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-2}$), utilizando um

analisador de gases por infravermelho (IRGA), portátil marca Li-Cor, modelo LI-6400. Estas análises de fotossíntese foram realizadas em folhas totalmente expandidas e expostas ao sol na altura média dos cachos, utilizando-se 5 repetições por tratamento, sendo uma avaliação por unidade experimental em cada índice de sintomatologia foliar de infestação por pérola-da-terra (1, 2, 3 e 4).

No mês de janeiro de 2007, amostrou-se as folhas das videiras, segundo a classificação pelo grau de evolução dos sintomas descritos anteriormente. Cada amostra foi composta por seis folhas (três folhas de cada planta). No grupo sintomáticas, as amostras foram classificadas entre os grupos 2, 3 e 4, tendo-se assim 15 amostras de plantas infestadas e cinco amostras de plantas sadias.

Para análise de ramos, coletou-se, dois segmentos de ramos por unidade experimental, contendo quatro gemas com três entrenós cada segmento, bem como amostras de raízes com aproximadamente 20 g de massa fresca. Estas coletas foram feitas em duas épocas, sendo a primeira em janeiro de 2007 e a segunda amostragem em março de 2007, com o intuito de se fazer uma amostragem de tecidos de acúmulo de reservas em pré-colheita e outra em pós-colheita.

Por ocasião da colheita, amostraram-se seis cachos, aleatoriamente, em cada unidade experimental. Além disso, coletou-se 18 bagas, aleatoriamente, da porção mediana dos cachos nas mesmas unidades experimentais remanescentes, a totalidade da amostra de bagas foi

imediatamente congelada em nitrogênio líquido, enquanto que os cachos foram acondicionados em gelo, para posterior análise em laboratório.

As folhas, os ramos e as raízes coletadas foram subdivididas em dois grupos, de acordo com as análises a ser realizadas. Um grupo amostral foi acondicionado em gelo e o outro grupo amostral foi acondicionado em nitrogênio líquido, esta divisão foi estabelecida de acordo com a sensibilidade a mudanças de temperatura e conservação que as análises exigiam.

As folhas das amostras refrigeradas foram submetidas à análise de área foliar, utilizando-se um medidor de área foliar Li-Cor modelo LI-3100, e massa fresca no mesmo dia das coletas de campo. Posteriormente, as folhas foram embaladas, identificadas e secas em estufa com circulação forçada de ar a 60°C até atingir peso constante, para determinação da massa seca.

Este procedimento repetiu-se para a determinação das massas fresca e seca de ramos. Para avaliação de diâmetro e comprimento de entrenós de ramos utilizou-se um paquímetro digital Digimess 100-147 BL.

As folhas, raízes, ramos e frutos amostrados e mantidos congelados à -18°C foram submetidos às determinações de proteínas totais e aminoácidos totais de acordo com os procedimentos descritos por Passos (1996). Nesta etapa, as folhas também foram analisadas em relação à pigmentação de clorofila de acordo com a metodologia de Passos (1996). As concentrações de N, P, K, Ca, Mg, Cu, Zn, Mn e B foram determinadas de acordo com metodologia proposta por Tedesco *et al.* (1995). Análises quantitativas de

amido foram realizadas nas amostras de folhas, raízes e ramos através do método enzimático descrito por Santos *et al.* (2004).

O índice de maturação foi determinado nas amostras de bagas, medindo-se o pH, acidez total titulável e °Brix do mosto. Para a definição de produção e características físicas dos cachos por unidade experimental, pesou-se todos os cachos, utilizando-se uma balança digital Metter PC 4400. O diâmetro equatorial de bagas foi medido com auxílio de um paquímetro digital e o peso de bagas foi determinado com uma balança analítica Mettler Toledo. Além disso, determinou-se o peso, em balança analítica, e diâmetro equatorial de bagas, utilizando 50 bagas por amostra de cada unidade experimental.

A análise estatística foi feita utilizando-se o software R (2008). Os resultados obtidos nas variáveis analisadas foram submetidos à análise de variância, sendo as médias das plantas sadias comparadas com as médias das infestadas usando o teste t para dados de raízes, ramos e frutos. Nas análises de folhas, as médias foram comparadas pelo uso de três contrastes ortogonais (folhas de plantas sadias x folhas de plantas infestadas; folhas assintomáticas de plantas infestadas x folhas cloróticas e folhas necróticas de plantas infestadas; folhas cloróticas de plantas infestadas x folhas necróticas de plantas infestadas).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As condições meteorológicas no decorrer do ciclo vegetativo, entre setembro de 2006 a fevereiro de 2007, permaneceram próximas à normal climatológica, observada no período entre 1961 e 1990 (Apêndice 1). A única exceção faz-se à precipitação pluviométrica nos meses de outubro e dezembro, que permaneceu abaixo da normal climatológica, favorecendo, como consequência, a insolação no mesmo período. Esta condição meteorológica foi favorável aos experimentos a campo, como os que foram realizados neste trabalho, visto que os sintomas e danos causados por pérola-da-terra são intensificados em anos com menor precipitação pluviométrica. Isto talvez explique a preferência do inseto por solos arenosos, os quais drenam com maior rapidez (Foldi, 2005).

4.1 Avaliações histológicas de raízes de videira infestadas por pérola-da-terra

Nas observações histológicas da raiz foi possível ver detalhes dos estiletes bem como sua organização no corpo da ninfa. Quando retraído, o estilete chega a formar três círculos na parte posterior do abdome das ninfas; entretanto, quando estendido (introduzido no tecido), ainda mantém um único semicírculo na mesma posição, ficando claro o arranjo morfológico destes, quando se encontram explorando (Figura 3a) ou não (Figura 3b) os tecidos radiciais da planta hospedeira. As ninfas analisadas e que possuíam estiletes introduzidos nos tecidos radiciais da videira, encontravam-se na fase de 2º ou 3º instar, corroborando o registrado por Botton *et al.* (2000) e Soria & Dal Conte (2000), de que a pérola-da-terra alimenta-se nestas fases.

Além disso, nas fotomicrografias foi possível visualizar a presença de três estiletes projetando-se de uma ninfa (Figura 4).



FIGURA 3. Fotomicrografias de ninfas de pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*). a. detalhe dos estiletes parcialmente estendidos. b. detalhe dos estiletes retraídos dispostos em forma circular no abdome da ninfa. Porto Alegre, 2008.



FIGURA 4. Fotomicrografia dos estiletos bucais de ninfa de pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*). Porto Alegre, 2008.

O longo comprimento do estilete (aproximadamente 195 μm) confere à cochonilha (aproximadamente 95 μm) a possibilidade de explorar tecidos em profundidades distantes do ponto de ataque (aproximadamente 95 μm). Estas estimativas do comprimento do estilete concordam com os resultados obtidos por Foldi (2005), que citou estiletos duas vezes maiores que o corpo do inseto.

Neste estudo foi possível, ainda, explorar a cápsula, eventualmente formada no entorno de alguns cistos, em forma de galha (Figura 5). Esta é citada por Foldi (2005) como uma forma de proteção desenvolvida para períodos desfavoráveis ao desenvolvimento biológico da pérola-da-terra. Nesta cápsula, percebe-se uma proliferação de tecido parenquimático na base, resultante de um meristema lateral reativo a presença do inseto (Figura 6). Contudo, a parte superior, e principal da cápsula, que recobre a cochonilha é formada por uma secreção, possivelmente polissacarídica e protéica, e de origem não vegetal, já que reagiu positivamente ao corante “coomassie blue”, produzindo azul violáceo na parte não vegetal. Quiñones.

et al., (2008) verificando a composição da casca grossa (cápsula) que isola *Eurhizococcus colombianus* do ambiente, indicaram a capacidade do inseto em hidrolizar triglicerídeo insaturado em ácido graxo insaturado, o que vai em desacordo com resultados apresentados por Wilkins & Soria, (1996) que relataram cadeias curtas de ácidos graxos em cistos de *E. brasiliensis*.

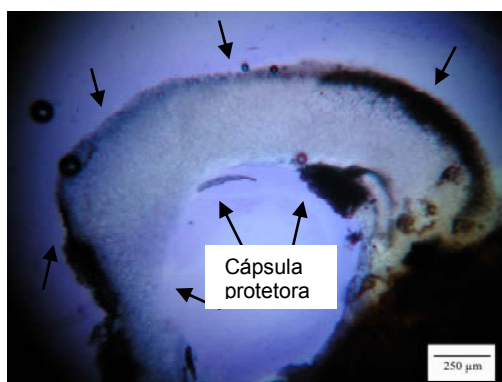


FIGURA 5. Cápsula protetora de cisto de pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*) em raiz de videira (*Vitis labrusca*). Na fotomicrografia é possível visualizar apenas a cápsula protetora e não o inseto. Porto Alegre, 2008.

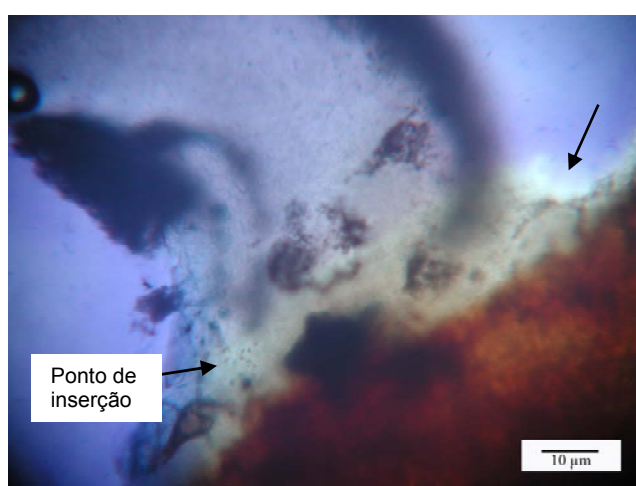


FIGURA 6. Fotomicrografia mostrando o ponto de inserção da cápsula protetora de cisto de pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*) com uma proliferação meristemática lateral da raiz de videira (*Vitis labrusca*). Porto Alegre, 2008.

Na figura 7, é possível visualizar a disposição dos estiletes de *E. brasiliensis* penetrando uma raiz de *V. labrusca* em direção ao floema.

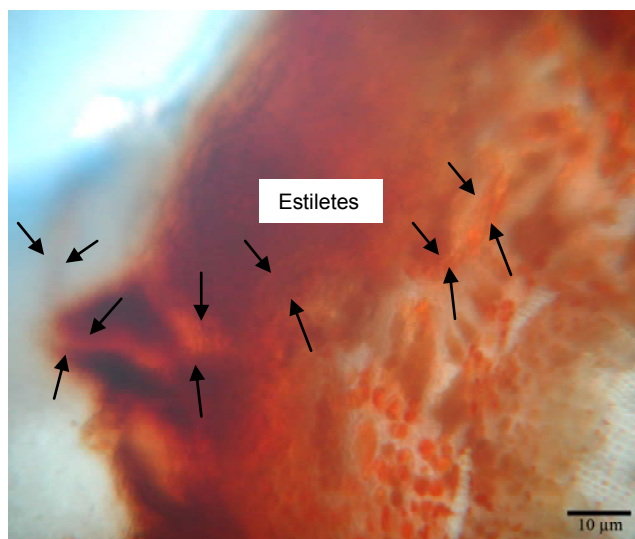


FIGURA 7. Fotomicrografia dos estiletes de pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*) penetrando uma raiz de videira (*Vitis labrusca*) em direção ao floema. Porto Alegre, 2008.

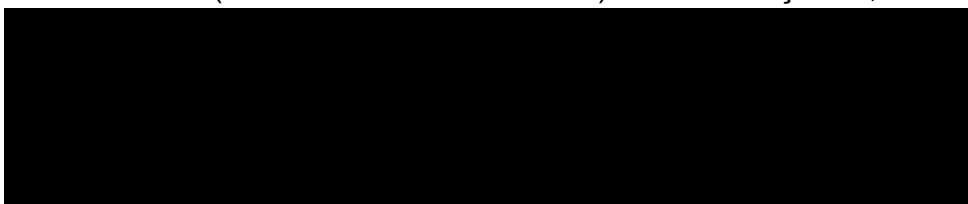
4.2 Experimento 1: Avaliação do crescimento e desenvolvimento de mudas de videira infestadas por pérola-da-terra

Ao final do primeiro ano de cultivo das mudas no viveiro, não foram observadas diferenças no número e comprimento das brotações entre plantas infestadas e não infestadas por pérola-da-terra.

No segundo ano de cultivo o número de brotações e o seu comprimento total destas foi afetado negativamente pela infestação radicial de mudas de videira por pérola-da-terra (Tabela 4). Entretanto, o número de feminelas não foi alterado por essa infestação. Além disso, as mudas atacadas não alteraram o número total de folhas emitidas em brotações

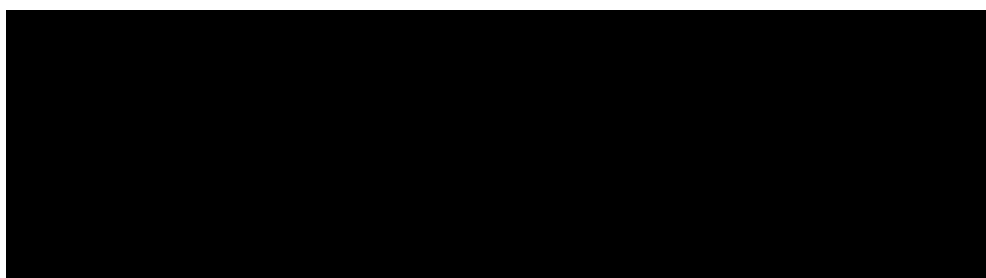
principais e feminelas (Tabela 5). Apesar desta estabilidade em número de tecidos, a área foliar média, as massas fresca e seca de ramos e folhas, e a porcentagem de água na parte aérea das plantas (Tabelas 4 e 5), foram afetadas negativamente pela infestação, o que torna evidente um menor crescimento e desenvolvimento das mudas de *V. vinifera* cultivadas sob infestação por pérola-da-terra.

TABELA 4. Número de brotações (Nb), número de feminelas brotadas (Nfb), comprimento total das brotações (Ctb), massa fresca de ramos (Mfr) e massa seca de ramos (Msr) de videiras cv. Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*) sadias e infestadas por pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*). Bento Gonçalves, 2007.



¹Médias comparadas pelo teste-t.

TABELA 5. Número total de folhas (Ntf), número total de folhas de feminelas (Ntff), área foliar média (Afm), área foliar média de folhas de feminelas (Afmf), conteúdo total de água na parte aérea (H₂O), massa fresca de folhas (Mff) e massa seca de folhas (Msf) de videiras cv. Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*) sadias e infestadas por pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*). Bento Gonçalves, 2007.



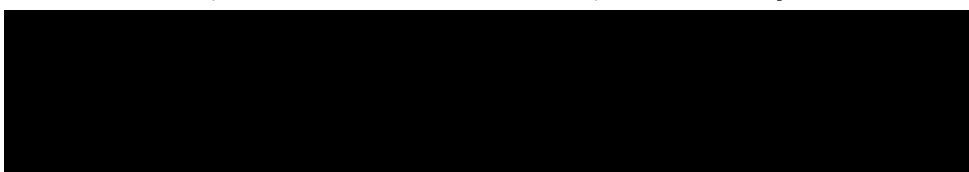
¹Médias comparadas pelo teste-t.

Apesar do efeito negativo da pérola-da-terra sobre o desenvolvimento vegetativo das mudas nenhum sintoma foliar visual como amarelecimento, encarquilhamento ou necrose foi percebido nas folhas de plantas infestadas. Esse comportamento está de acordo com a literatura, a qual descreve que estes sintomas foliares tornam-se mais evidentes em videiras adultas infestadas por pérola-da-terra (Hickel, 1998; Botton *et al.*, 2000; Haji *et al.*, 2004). Com isso, pode-se supor que o efeito repressor do ataque da pérola-da-terra tende a ser cumulativo ao longo do crescimento e desenvolvimento da videira, manifestando-se com mais intensidade em plantas que tiveram um maior período de convivência e ataque por esse inseto

4.3 Experimento 2: Respostas de plantas adultas de videira (cv. Isabel – *V. labrusca*) à presença de pérola-da-terra

Considerando o ataque de pérola-da-terra em plantas adultas de videira, destaca-se que a arquitetura das plantas foi afetada pela infestação radicial do inseto, ocorrendo uma redução significativa do comprimento, do diâmetro, e das massas fresca e seca de ramos (Tabela 6).

TABELA 6. Comprimento médio do entrenó de ramos (Cme), diâmetro dos ramos ($\emptyset r$), massa fresca de ramos (Mfr) e massa seca de ramos (Msr) de videiras cv. Isabel (*Vitis labrusca*) sadias e infestadas por pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*). Bento Gonçalves, 2007.



¹Médias comparadas pelo teste-t.

Além disso, a área e as massas fresca e seca foliares foram decrescentes e inversamente correlacionadas com os sintomas foliares de infestação radicial (Tabela 7). Nestas variáveis, destaca-se que apenas os grupos de folhas cloróticas e necróticas de plantas infestadas não diferem estatisticamente entre si (Tabela 7). A expressão dos sintomas observados entre os índices foliares de plantas infestadas corrobora os sintomas descritos por Hickel (1998).

TABELA 7. Área foliar média, massas fresca e seca média de folhas de videiras cv. Isabel (*Vitis labrusca*) sadias e infestadas por pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*). Bento Gonçalves, 2007.



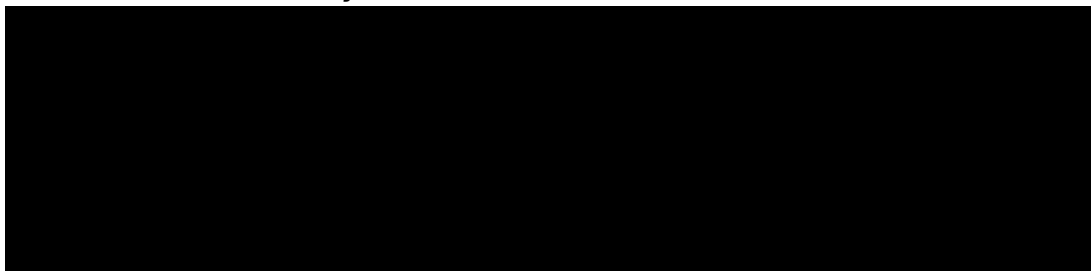
¹Médias comparadas por contrastes ortogonais.

²Grupo foliar de acordo com sintomatologia visual, sendo: 1 para folhas de plantas sadias; 2 para folhas assintomáticas de plantas infestadas; 3 para folhas cloróticas de plantas infestadas e, 4 para as folhas necróticas de plantas infestadas.

Quanto à concentração de nutrientes nos tecidos foliares, não foram observadas diferenças entre os índices de infestação para os teores de nitrogênio, cálcio e manganês (Tabela 8). Os valores de cobre devem ser desconsiderados, visto que o cultivo da videira requer, tradicionalmente, aplicações foliares de fungicidas cúpricos para controle de patologias fúngicas (Tabela 8). Observa-se ainda nesta mesma tabela, um acúmulo nos teores de fósforo, proporcional ao aumento dos sintomas foliares de infestação radicial e redução de potássio e boro em folhas de plantas infestadas, porém sem diferenças entre os índices de infestação foliares 2, 3 e 4. A concentração de magnésio apresentou acréscimo em folhas cloróticas

de plantas infestadas. Zinco apresentou acúmulo em folhas sintomáticas com clorose ou necrose, diferenciando-as das folhas assintomáticas de plantas infestadas, que apresentaram menores concentrações para este micronutriente. Zinco é um elemento necessário para a síntese de amido (Fregoni, 1980).

TABELA 8. Teores nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn) e boro (B) em folhas de videiras cv. Isabel (*Vitis labrusca*) sadias e infestadas por pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*). Bento Gonçalves, 2007.



¹Médias comparadas por contrastes ortogonais.

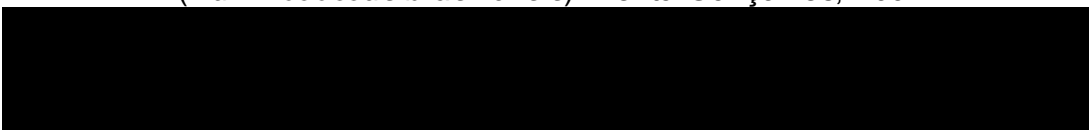
²Grupo foliar de acordo com sintomatologia visual, sendo: 1 para folhas de plantas sadias; 2 para folhas assintomáticas de plantas infestadas; 3 para folhas cloróticas de plantas infestadas e, 4 para as folhas necróticas de plantas infestadas.

Fráguas *et al.* (2000) correlacionaram a fertilidade do solo com o número de cistos no sistema radicial de plantas infestadas por pérola-da-terra e observaram uma correlação positiva para potássio e magnésio.

Comparando-se as concentrações nutricionais foliares obtidas em folhas de plantas sadias e infestadas por pérola-da-terra com os valores apresentados por Giovannini (1999), como normais para a cultura da videira, potássio e boro estariam abaixo do normal, tanto para plantas sadias como infestadas, e os demais elementos, entre os níveis de normalidade ou acima destes.

Efeitos verificados sobre as concentrações de clorofilas α , β e totais, demonstram perfeitamente uma redução das mesmas frente aos índices foliares de infestação (Tabela 9), mesmo com a concentração estável de nitrogênio nestes tecidos (Tabela 8) e em níveis considerados acima do normal para a cultura de acordo com Giovannini, (1999).

TABELA 9. Teores de clorofilas α , β e totais em folhas de videiras cv. Isabel (*Vitis labrusca*) sadias e infestadas por pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*). Bento Gonçalves, 2007.

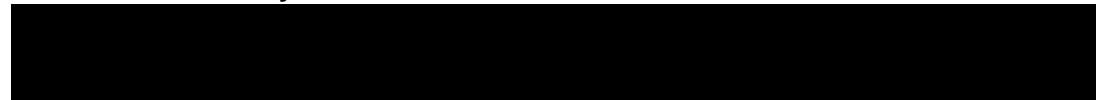


¹Médias comparadas por contrastes ortogonais.

²Grupo foliar de acordo com sintomatologia visual, sendo: 1 para folhas de plantas sadias; 2 para folhas assintomáticas de plantas infestadas; 3 para folhas cloróticas de plantas infestadas e, 4 para as folhas necróticas de plantas infestadas.

A infestação por pérola-da-terra nas plantas de videira exerce influência sobre o processo fotossintético (Tabela 10). À luz dos dados obtidos, não se pode precisar em que etapa do processo fotossintético está ocorrendo esta influência, mas o fato de a taxa fotossintética apresentar variação entre os índices foliares de infestação e a condutância estomática não apresentar deficiências entre os diferentes grupos de folhas, pode-se supor que, possivelmente, as desordens estejam acontecendo na etapa fotoquímica do processo, prejudicando a síntese ou estimulando a degradação dos pigmentos foliares, prejudicando diretamente o metabolismo e o crescimento vegetal (Lawlor, 1987).

TABELA 10. Taxa fotossintética e condutância estomática em radiação fotossinteticamente saturante ($800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-2}$) em folhas de videiras cv. Isabel (*Vitis labrusca*) sadias e infestadas por pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*). Bento Gonçalves, 2007.



¹Médias comparadas por contrastes ortogonais.

²Grupo foliar de acordo com sintomatologia visual, sendo: 1 para folhas de plantas sadias; 2 para folhas assintomáticas de plantas infestadas; 3 para folhas cloróticas de plantas infestadas e, 4 para as folhas necróticas de plantas infestadas.

Este efeito pode ser direto, com a ação de alguma toxina injetada na planta como sugerido por Haji *et al.* (2004), ou indireto, através da redução de algum elemento essencial para síntese de pigmentos ou algum outro constituinte do complexo protéico, que formam as antenas de captação de luz ou dos centros de reação dos fotossistemas, presentes nas membranas dos tilacóides nos cloroplastos.

No detalhamento dos dados obtidos para taxa fotossintética e condutância estomática (Figura 8), deve-se considerar que as plantas infestadas apresentaram uma menor eficiência do uso da água. Isto fica evidente quando compara-se o conjunto de folhas de plantas infestadas e folhas de plantas sadias (Tabela 10), sendo que para uma mesma condutância estomática, as plantas infestadas apresentam valores decrescentes e estatisticamente significativos de taxa fotossintética. Esta menor eficiência na gestão do uso da água por parte de plantas infestadas por pérola-da-terra pode estar ligada a superexpressão dos sintomas e danos em anos secos. Este fato pode ser agravado em função da preferência por solos secos e bem drenados, pela pérola-da-terra (Foldi,

2005), o que nos leva a pensar numa maior taxa de reprodução da cochonilha nestas condições edafoclimáticas.

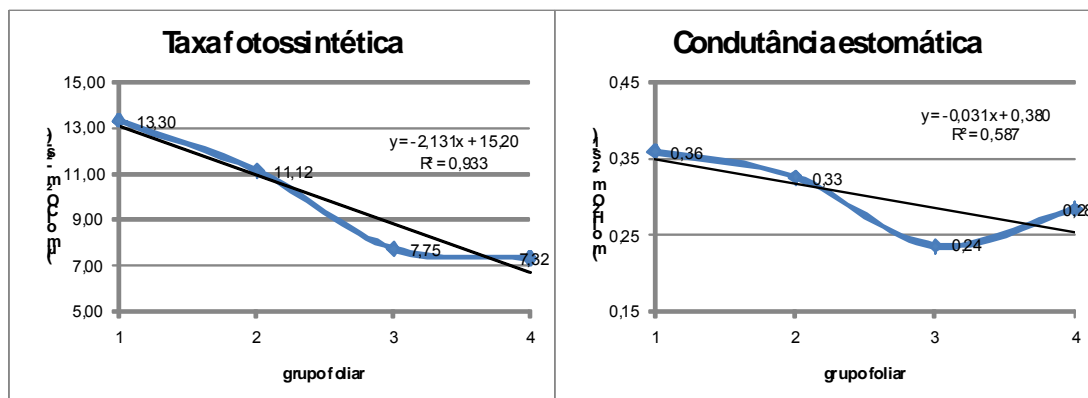


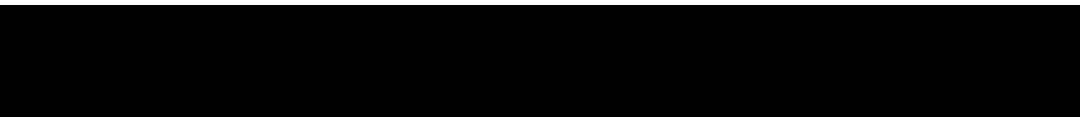
FIGURA 8. Avaliação da taxa fotossintética e condutância estomática em radiação fotossinteticamente saturante ($800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-2}$), em folhas de videiras cv. Isabel (*Vitis labrusca*), sadias e infestadas por pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*). Bento Gonçalves, 2007.

¹Avaliações realizadas entre as 13h00m e 15h30m do dia 23 de março de 2007.

²Grupo foliar de acordo com sintomatologia visual, sendo: 1 para folhas de plantas sadias; 2 para folhas assintomáticas de plantas infestadas; 3 para folhas cloróticas de plantas infestadas e, 4 para as folhas necróticas de plantas infestadas.

Com relação aos compostos de reservas, folhas de plantas com sistema radicial infestado por pérola-da-terra apresentaram um progressivo aumento na concentração de amido, quando comparadas às folhas de plantas sadias (Tabela 11). Este acréscimo é muito acentuado nas folhas dos grupos 3 e 4 porém, indiferente entre estes (Tabela 11). Proteínas totais demonstram um pequeno e significativo acúmulo em folhas necróticas de plantas infestadas, e níveis estáveis para os demais grupos foliares (Tabela 11). Aminoácidos totais apresentam comportamento oposto, sendo estes reduzidos em função da infestação por pérola-da-terra e indiferentes estatisticamente entre os grupos foliares 3 e 4 (Tabela 11).

TABELA 11. Percentuais de amido, proteínas totais e aminoácidos totais em folhas de videiras cv. Isabel (*Vitis labrusca*) sadias e infestadas por pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*). Bento Goncalves, 2007.



¹Médias comparadas por contrastes ortogonais.

²Grupo foliar de acordo com sintomatologia visual, sendo: 1 para folhas de plantas sadias; 2 para folhas assintomáticas de plantas infestadas; 3 para folhas cloróticas de plantas infestadas e, 4 para as folhas necróticas de plantas infestadas.

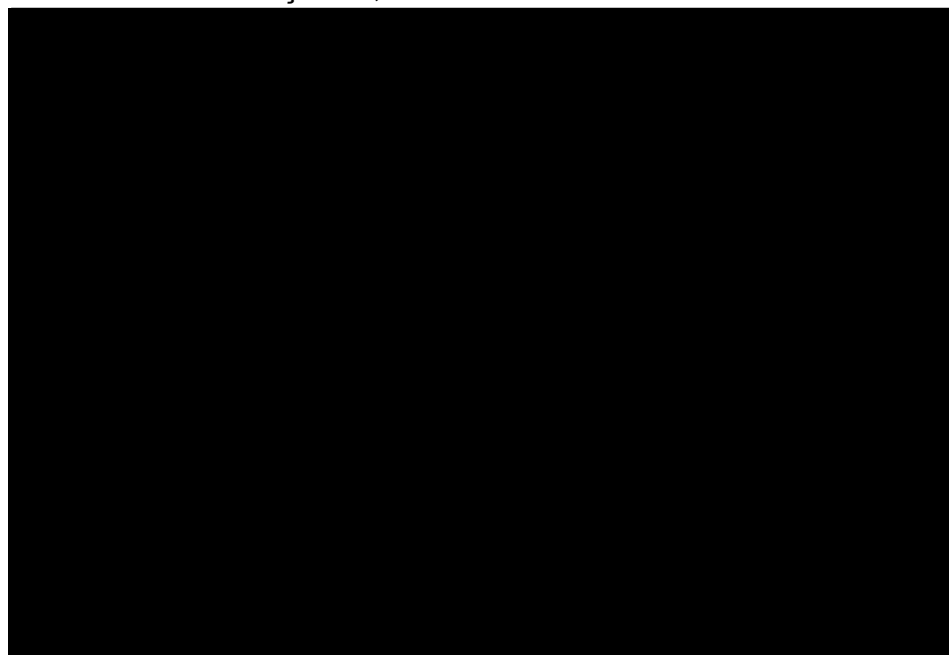
Uma possível explicação para este comportamento seria o aumento da síntese de ACC, precursor de etileno, nas raízes (Smeekens, 2000), a qual seria desencadeada pelos danos físicos causados nos tecidos radiciais pelo inseto (Buchanan *et al.*, 2000). Esta síntese de etileno acelera o processo de abscisão, promovendo maior síntese de amido e mobilização de reservas.

Outra possibilidade para explicar a maior síntese e acúmulo de amido nos tecidos foliares de plantas infestadas, é uma possível interferência sobre o mecanismo bioquímico de transporte de trioses-P do cloroplasto para o citoplasma. Este mecanismo é controlado pela disponibilidade de Pi (balanço energético), pela concentração de trioses-P e pela mobilização de sacarose do citoplasma para outros tecidos da planta (Raven *et al.*, 1996).

A pérola-da-terra pode estar afetando diretamente a dinâmica destes processos, influenciando o carregamento do floema (Kerbaudy, 2004). Esta hipótese é reforçada pelo maior acúmulo de amido em tecidos foliares de plantas infestadas e pelo aparecimento de necroses em folhas de plantas infestadas ter início nas células adjacentes às nervuras foliares.

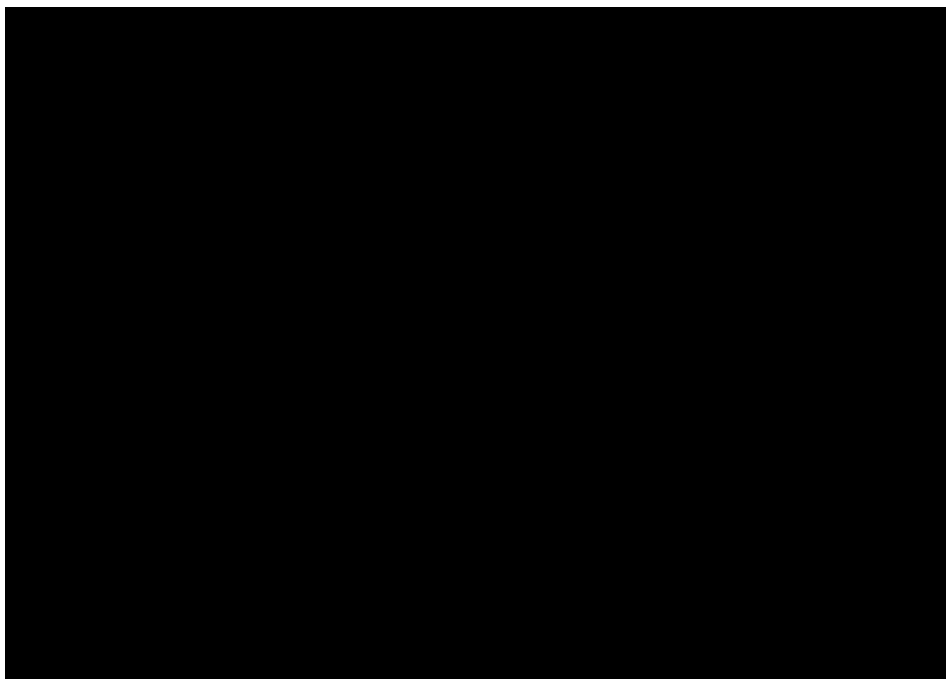
Os teores nutricionais quantificados em raízes e ramos, em pré e pós-colheita, determinados nos meses de janeiro e março de 2007, respectivamente, não apresentaram relações sólidas entre infestação por pérola-da-terra em plantas de videira e níveis nutricionais nestes tecidos (Tabelas 12 e 13), com exceção ao boro.

TABELA 12. Teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn) e boro (B), em duas épocas de amostragem, em raízes de videiras cv. Isabel (*Vitis labrusca*) saudáveis e infestadas por pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*). Bento Gonçalves, 2007.



¹Médias comparadas pelo teste-t.

TABELA 13. Teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn) e boro (B) em duas épocas de amostragem, em ramos de videiras cv. Isabel (*Vitis labrusca*) sadias e infestadas por pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*). Bento Gonçalves, 2007.



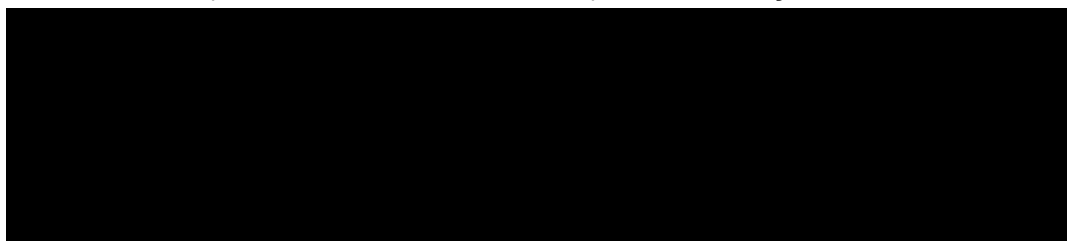
¹Médias comparadas pelo teste-t.

Embora a disponibilidade de boro no solo fosse normal para a cultura, as concentrações em plantas infestadas foram menores que em plantas sadias, tanto para folhas, quanto para raízes e ramos, principalmente no período de pré-colheita. Uma possível influência da pérola-da-terra sobre os níveis de boro em plantas de videira pode explicar boa parte dos sintomas característicos da infestação, pois a deficiência de boro pode causar redução de comprimento e diâmetro de ramos, menor síntese de clorofilas e ácido nucléico, redução do diâmetro de bagas entre outros (Fregoni, 1980).

Em termos gerais, as quantidades de amido, proteínas e aminoácidos totais em raízes não apresentaram diferenças entre plantas sadias e

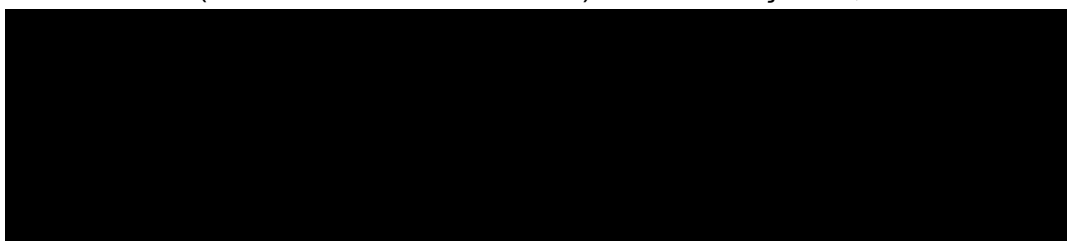
infestadas em pré e pós-colheita, ficando evidente apenas um acúmulo destes compostos de reservas em pós-colheita, quando comparado com os níveis verificados em pré-colheita (Tabela 14). Este efeito cumulativo foi maior para amido em raízes de plantas infestadas por pérola-da-terra, o qual foi distinto significativamente de raízes de plantas sadias para a mesma época de amostragem (Tabela 14). A mesma tendência de acúmulo em pós-colheita não se confirmou para amido em ramos de plantas infestadas (Tabela 15). Nas plantas infestadas por pérola-da-terra, os teores de amido em pós-colheita tiveram suas reservas reduzidas enquanto as reservas de amido em plantas sadias aumentaram.

TABELA 14. Percentuais de amido, proteínas totais e aminoácidos totais, em duas épocas de amostragem, em raízes de videiras cv. Isabel (*Vitis labrusca*) sadias e infestadas por pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*). Bento Gonçalves, 2007.



¹Médias comparadas pelo teste-t.

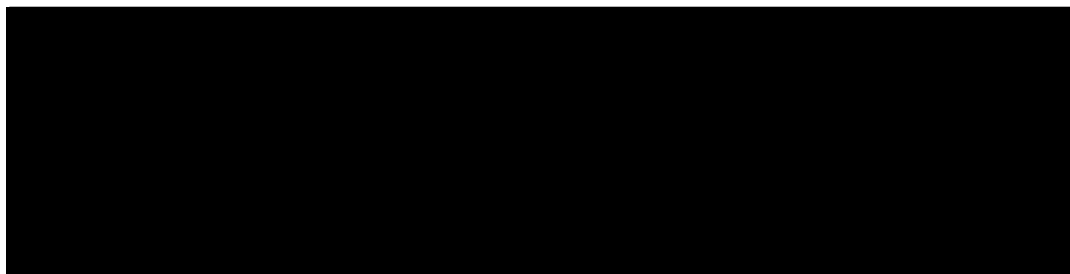
TABELA 15. Percentuais de amido, proteínas totais e aminoácidos totais, em duas épocas de amostragem, em ramos de videiras cv. Isabel (*Vitis labrusca*) sadias e infestadas por pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*). Bento Gonçalves, 2007.



¹Médias comparadas pelo teste-t.

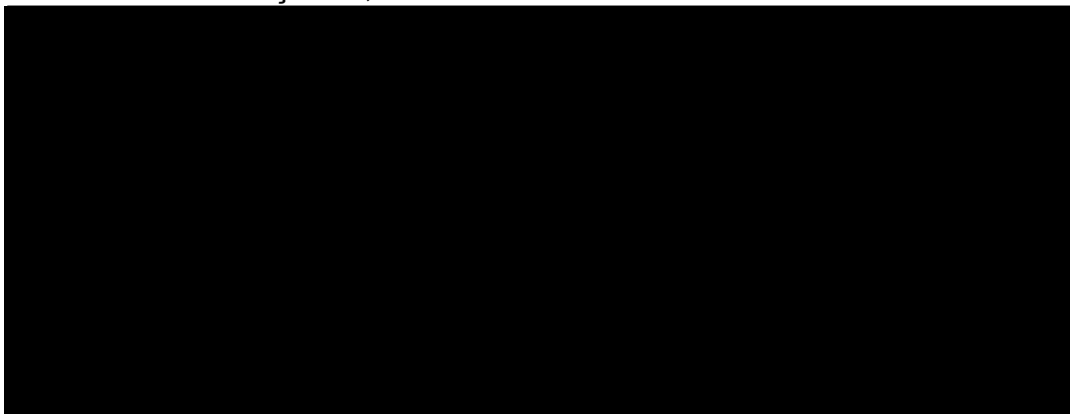
Ao avaliar-se os parâmetros químicos de frutos não foram encontradas diferenças entre uvas oriundas de videiras infestadas ou sadias (Tabela 16). Entretanto, com relação aos parâmetros físicos da produção, apenas o diâmetro médio das bagas foi inferior em videiras infestadas por pérola-da-terra (Tabela 16), podendo existir relação com a redução dos teores de boro em tecidos, embora esta redução não ocorreu em frutos (Tabela 17).

TABELA 16. Avaliações qualitativas e quantitativas dos frutos de videiras cv. Isabel (*Vitis labrusca*) sadias e infestadas por pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*). Bento Gonçalves, 2007.



¹Médias comparadas pelo teste-t.

TABELA 17. Teores de proteínas totais, aminoácidos totais, nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn) e boro (B) em frutos de videiras cv. Isabel (*Vitis labrusca*) sadias e infestadas por pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis*). Bento Gonçalves, 2007.



¹Médias comparadas pelo teste-t.

Na avaliação nutricional de frutos, apenas o zinco apresentou diferenças, sendo maior sua concentração em frutos de plantas infestadas (Tabela 17).

Por vezes, plantas perenes, como é o caso da videira, apresentam grandes quantidades de reservas, e por isso, podem suportar injúrias e deficiências mantendo níveis estáveis por mais tempo (Mullins *et al.*, 1992).

5 CONCLUSÕES

1. Pérola-da-terra pode penetrar os seus estiletos até 95 μm nas raízes do hospedeiro.
2. Pérola-da-terra tem a capacidade de restringir o desenvolvimento de videiras já na fase de viveiro, a partir do segundo ano de crescimento.
3. À medida que se intensificam os sintomas foliares de ataque de pérola-da-terra, ocorre redução de teores de clorofilas e acúmulo de amido em folhas de videira.
4. Videiras infestadas por pérola-da-terra têm seu desenvolvimento vegetativo reduzido, causado pela redução da concentração de clorofilas α , β e totais em tecidos foliares, com conseqüente redução da taxa fotossintética.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERSHEIM, P.; DARVILL, A.G. Oligosaccharins. **Scientific American**, New York, v. 253, p. 58-64, 1985.

BERND, R. B. *et al.* Micropropagação de porta-enxertos híbridos de *Vitis labrusca* x *Vitis rotundifolia* com resistência à pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis* Hempel, Hemiptera: Margarodidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 2, p. 350-354, 2007.

BOTTON, M. *et al.* Avaliação de inseticidas visando ao controle da pérola-da-terra *Eurhizococcus brasiliensis* Hempel (Hemiptera: Margarodidae) na cultura da videira. In: REUNIÃO SUL BRASILEIRA SOBRE PRAGAS DO SOLO, 7., 1999, Piracicaba. **Anais e Ata...** Piracicaba, SP, 1999. p. 102-104.

BOTTON, M. *et al.* **Bioecologia e controle da pérola-da-terra *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel, 1922) (Hemiptera: Margarodidae) na cultura da videira.** Bento Gonçalves: Embrapa-CNPUV, 2000. 23 p. (Circular Técnica, 27)

BRAGA, M.R.; COSTA, A.P.P.; DIETRICH, S.M.C. Cell wall carbohydrates as triggers of defensive responses in plants. **Ciência e Cultura**, Campinas, v. 45, p. 76-80, 1993.

BUCHANAN, B.B.; GRUISSEN, W.; JONES, R.L. **Biochemistry and molecular biology of plants.** Maryland: Courier Companies, 2000. 1367p.

BUCKLEY, R.; GULLAN, P. More aggressive ant species (Hymenoptera: Formicidae) provide better protection for soft scales and mealybugs (Homoptera: Coccidae, Pseudococcidae). **Biotropica**, Zurich, v 23, p. 282-286, 1991.

CHINA, W.E.; MILLER, N.C.E. Check-list and keys to the Families and subFamilies of the Hemiptera-Heteroptera. **Bulletin of the British Museum of Natural History**, London, v. 8, n. 1, p. 1-45, 1959.

COLLETTA, V.D.; BOTTON, M. Avaliação de cultivares de *Vitis rotundifolia* visando resistência à pérola-da-terra *Eurhizococcus brasiliensis* (Hemiptera: Margarodidae). In: REUNIÃO SUL BRASILEIRA DE PRAGAS DE SOLO, 8., 2001, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2001. p. 164-167.

COSTA, G.R. **Alguns insetos e outros pequenos animais que danificam plantas cultivadas no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, 1958. 296p.

COSTA LIMA, A. Sobre insetos parasitas da videira. **Almanaque Agrícola Brasileiro**, São Paulo, p. 135-141, 1924.

DEFESA CIVIL DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL. **Ciclo climático é favorável a estiagens no Rio Grande do Sul**. Disponível em <<http://www.defesacivil.rs.gov.br/meteorologia>> Acesso em: 5 abr. 2008.

DELABIE, J.H.C. Trophobiosis between Formicidae and Hemiptera (Sternorrhyncha and Auchenorrhyncha): an overview. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 4, p. 501-516, 2001.

FIGUEIRA JÚNIOR, E.R. Nova praga da videira em São Paulo – *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel). **O Biológico**, São Paulo, v. 36, n. 9, p. 229-234, 1970.

FOLDI, I. Une cochenille nouvelle, *Margarodes soriai*, n.sp. nuisible à la vigne au Brésil (Homoptera, Coccoidea, Margarodidae). **Annales de la Société Entomologique de France**, Paris, v. 23, n. 2, p. 155-159, 1987.

FOLDI, I. Morphologie dès stades larvaires et imaginal du male d'*Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel in Wille 1922) (Homoptera: Coccoidea: Margarodidae). **Nouvelle Revue d'Entomologie (Nouvelle Serie)**, Paris, v. 7, n. 4, p. 405-418, 1990.

FOLDI, I. Ground pearls: a generic revision of the Margarodidae *sensu stricto* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoidea). **Annales de la Société Entomologique de France**, Paris, v. 41, n. 1, p. 81-125, 2005.

FOWLER, H.G. *et al.* Ecologia nutricional das formigas. In. PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. (Ed.). **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole, 1991. Cap. 5, p. 131-223.

FRÁGUAS, J.C.; SORIA, S.J.; HOCHMÜLLER, D.P. Observações de campo sobre as inter-relações entre níveis populacionais da pérola-da-terra *Eurhizococcus brasiliensis* (Homoptera, Margarodidae) e alguns fatores de fertilidade do solo. **Entomología y Vectores**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 4, p. 339-354, 2000.

FREGONI, M. **Nutrizione e fertilizzazione della vite**. Bologna: Edagricole, 1980. 418p.

GALLOTTI, B.J. **Contribuição para o estudo e para o controle químico do *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel, 1922)**. Curitiba : UFPR, 1976. 63 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1976.

GIOVANNINI, E. **Produção de uvas para vinho, suco e mesa**. Porto Alegre: Renascença, 1999. 364 p.

GOBBATO, C. **Manual do viti-vinicultor brasileiro**. 4. ed. Porto Alegre: Globo, 1940. 422p.

GOMES, R.M.D.; SORIA, S.J. **Controle biológico da pérola-da-terra com fungos entomopatogênicos**. Bento Gonçalves: Embrapa – CNPUV, 1992. 1p. (Informe Técnico)

GRIGOLLETTI, J.R.; SORIA, S.J. Controle químico da pérola-da-terra *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel in Wille, 1922) (Homoptera: Margarodidae) 1. Ensaio comparativo da eficácia de alguns inseticidas em vinhedos do Rio Grande do Sul, Brasil. **Entomologia y Vectores**, Rio de Janeiro, v. 6, n. 1, p. 11-22, 1999.

HAIJ, F.N.P.; ALENCAR, J.A. de. Pragas da videira e alternativas de controle. In: SOUZA LEÃO, P.C. de; SOARES, J.M. (Ed.) **A viticultura no semi-árido brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2000. p. 273-291.

HAIJ, F.N.P. *et al.* **Cochonilha-Pérola-da-Terra**: Praga Emergente na Cultura da Uva, no Submédio do Vale do São Francisco. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2004. 8 p. (Circular Técnica, 78)

HICKEL, E.R. Reconhecimento, coleta, transporte e depósito de ninfas da pérola-da-terra, *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel), pela formiga argentina *Linepithema humile* (Mayr). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 23, n. 2, p. 285-290, 1994.

HICKEL, E.R. **Pragas da videira e seu controle no Estado de Santa Catarina**. Florianópolis: Epagri, 1996. 52p. (Boletim Técnico, 77)

HICKEL, E.R. Pragas da videira. In: BRAGA SOBRINHO, R.; CARDOSO, J.E.; FREIRE, F.C.O. **Pragas de fruteiras tropicais de importância agroindustrial**. Brasília: Embrapa SPI, 1998. p.191-194.

HICKEL, E.R.; PERUZZO, E. L.; SCHUCK, E. Controle da pérola-da-terra, *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel) (Homoptera: Margarodidae), através da insetigação. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 127-132, 2001.

HICKEL, E.R.; SCHMITT, A.T. Prospecção do controle de pérola-da-terra, *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel), com nematódeos entomopatogênicos, *Steinernema carpocapsae* All. In: REUNIÃO SUL BRASILEIRA SOBRE PRAGAS DE SOLO, 6., 1997, Santa Maria. **Anais e Ata...** Santa Maria, RS: Departamento de Defesa Fitossanitária da UFSM, 1997. p. 103-105.

HOLMES, R.S. *et al.* Effect of greenbug (Homoptera: Aphididae) feeding on carbohydrates levels in wheat. **Journal of Economic Entomology**, [S. l.], v. 84, n. 3, p. 897-901, 1991.

JAKUBSKI, A.W. **A critical revision of the families Margarididae and Termitococcidae (Hemiptera, Coccoidea)**. London : Trustees of the British Museum (Natural History), 1965. 187 p.

KELLOW, A.V. *et al.* *In vitro* assessment of grapevine resistance to two populations of phylloxera from Australian vineyards. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v. 8, n. 2, p. 109-116, 2002.

KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 452p.

KUHN, G.B. *et al.* **O cultivo da videira: informações básicas**. Bento Gonçalves: Embrapa CNPUV, 1996. 60p. (Circular Técnica, 10)

LAWLOR, D.W. **Photosynthesis: metabolism, control and physiology**. London: Longman Scientific & Technical, 1987. 262p.

LIMA, A. da C. **Insetos do Brasil**. 3º Tomo, Hemípteros. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1942. 327 p. (Escola Nacional de Agronomia, Série didática, 4)

LOURENÇÃO, A.L.; MARTINS, F.P.; ALARCON, L. C. Ocorrência de *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel) (Homoptera: Margarodidae) em videira no município de Louveira, Estado de São Paulo. **Bragantia**, Campinas, v. 48, n. 2, p. 205-208, 1989.

MA, R. *et al.* Detection of pectinesterase and polygalacturonase from salivary secretions of living greenbugs, *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae). **Journal of Insect Physiology**, Columbus, v. 36, n. 7, p. 507-512, 1990.

MADHUSUDHAN, V.V.; MILES, P.W. Mobility of salivary components as a possible reason of differences in the responses of alfalfa to the spotted alfalfa aphid and pea aphid. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Danvers, v. 86, n. 1, p. 25-39, 1998.

MARICONI, F.A.M.; ZAMITH, A.P.L. Contribuição para o conhecimento dos Margarodidae (Homoptera: Margarodidae) que ocorrem no Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 2, n. 1, p. 86-101, 1973.

MATOS, C.S., SCHUCK, E. Controle de pragas da videira. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 1, n. 2, p. 12-14, 1988.

MATOS, C.S.; SORIA, S.J. Margarodes na cultura da videira em SC. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 3, n. 3, p. 46-48, 1990.

MELLO, L.M.R.de (Ed.). **Cadastro vitícola do Rio Grande do Sul: 2001 a 2004**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2005. 1 CD-ROM

MILANEZ, J.M. Diagnóstico de pragas de solo do Estado de Santa Catarina. In: REUNIÃO SUL BRASILEIRA DE PRAGAS DE SOLO, 8., 2001. Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2001. p. 26-28.

MILES, P.W. Aphid saliva. **Biological Review**, Oxford, v. 74, n. 1, p. 41-85, 1999.

MORALES, L. Relatos de ocorrências de pragas de solo no Estado do Paraná – 2001. In: REUNIÃO SUL BRASILEIRA DE PRAGAS DE SOLO, 8., 2001, Londrina. **Anais...** Londrina, PR: Embrapa Soja, 2001. p. 28-32.

MULLINS, M.G.; BOUQUET, A.; WILLIAMS, L.E. **Biology of grapevine**. Cambridge: Cambridge Press, 1992. 239p.

NOTHNAGEL, E.A.; MCNEIL, M.; DELL, A. Host-pathogen interactions. XXII. A galacturonic acid oligosaccharide from plant cell wall elicits phytoalexins. **Plant Physiology**, Rockville, v. 71, p. 916-926, 1983.

NOVO, J.P.S. Pérola-da-terra. **O Estado de São Paulo**, São Paulo, 1978. Suplemento Agrícola, p. 5.

OLIEN, W.C. Muscadine grape: botany, viticulture, history and current industry. **HortScience**, Alexandria, v. 25, n. 7, p. 732-739, 1990.

OLIVEIRA, A.M.; PELLEGRIN, M.; SILVA, S.P. Ensaio de controle da pérola-da-terra *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel, 1922) em videira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 1971, Campinas. **Anais...** Campinas, SP: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1971. p.747-753.

OLMO, H.P. The potential role of (*vinifera x rotundifolia*) hybrids in grape variety improvement. **Experientia**, Basel, v. 42, n. 8, p. 921-926, 1986.

PANIZZI, A.R.; NOAL, A.C. ***Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel, 1922) disseminação no município de Passo Fundo**. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo : IPEPLAN, 1971. 34p.

PASSOS, L. P. **Métodos analíticos e laboratoriais em fisiologia vegetal**. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1996. 223p.

QUIÑONES, W. *et al.* Chemical composition of ground pearl (*Eurhizococcus colombianus*) cysts. **Molelules**, Basel, v. 13, n. 1, p. 190-194, 2008.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <http://www.R-project.org> Acesso em: 16 jan. 2008.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia vegetal**. Rio de Janeiro: Ganabara Koogan, 1996. 728p.

SACCHETT, F. **Comunidades de formigas em vinhedos e espécies associadas com a dispersão de cistos da pérola-da-terra *Eurhizococcus brasiliensis* (Wille, 1922) (Hemiptera: Margarodidae)**. São Leopoldo : Unisinos, 2006. 69 f. Dissertação (Mestrado em Diversidade e Manejo da Vida Silvestre) – Programa de Pós-Graduação em Biologia, Faculdade de Biologia, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, 2006.

SAKAI, T. *et al.* Pectin, pectinase and protopectinase: production, properties and applications. **Advances and Applications in Microbiology**, San Diego, v. 39, p. 213-294, 1993.

SANDSTRÖM, J.; TELANG, A.; MORAN, N.A. Nutritional enhancement of host plants by aphids – a comparison of three aphid species on grasses. **Journal of Insect Physiology**, Columbus, v. 46, v. 1, p. 33-40, 2000.

SANTOS, H.P. *et al.* The control of storage xyloglucan mobilization in cotyledons of *Hymenaea courbaril*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 135, p. 287-299, 2004.

SCHUCK, E. *et al.* Novas alternativas na busca de soluções para o declínio da videira. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 6, n. 4, p. 48-50. 1993.

SCHUCK, E. *et al.* Porta enxertos para a cultura da videira. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 4., 2001, Fraiburgo. **Anais...** Caçador, SC, 2001. p. 122-132.

SECCHI, V.A. Situação atual das pragas de solo na região Sul-brasileira. In: REUNIÃO SUL BRASILEIRA DE PRAGAS DE SOLO, 8., 2001. Londrina. **Anais...** Londrina, 2001. p. 17-25.

SILVESTRI, F. Ridescrizione del genere *Termitoccus* Silv. con una specie nuova del Brasile e descrizione di un nuovo genere affine. **Bollettino del laboratorio di zoologia generale e agraria, del R. Istituto superiore agrário di Portici**, Portici, v. 30, p. 32-40, 1936.

SMEEKENS, S. Sugar-induced signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 51, p. 49-81, 2000.

SORIA, S.J. Pérola-da-terra: ameaça às videiras do Sul. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 25, p. 14-15, 1986.

SORIA, S.J.; BRAGUINI, L.C. Controle químico da pérola-da-terra *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel in Wille, 1922) (Homoptera: Margarodidae) 2. Avaliação da bioeficácia do vamidothion na cultura da videira. **Entomologia y Vectores**, Rio de Janeiro, v. 6, n. 5, p. 555-561, 1999.

SORIA, S.J.; CAMARGO, U.A.; BRAGUINI, L.C. Obtenção de plantas de videira enxertadas sobre híbridos de Euvitis x Muscadinea visando avaliação de resistência à pérola-da-terra. In: REUNIÃO TÉCNICA DE FRUTICULTURA, 3., 1994, Porto Alegre. **Resumos...** Porto Alegre, 1994. p. 61-62.

SORIA, S.J.; DAL CONTE, A.F. Bioecologia e controle das pragas da videira no Brasil. **Entomologia y vectores**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 1, p. 73-102, 2000.

SORIA, S.J. *et al.* Avaliação no campo da resistência de videiras americanas à pérola-da-terra *Eurhizococcus brasiliensis*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 7., 1993, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves, 1993. p.19-23.

SORIA, S.J.; GALLOTTI, B.J. **O margarodes da videira *Eurhizococcus brasiliensis* (Homoptera: Margarodidae):** biologia, ecologia e controle no Sul do Brasil. Bento Gonçalves: Embrapa CNPUV, 1986. 22p. (Circular Técnica, 13)

SORIA, S. J.; MELLO, R. P. Ocorrência de *Proleipsis lucifer* (Wiedemann, 1928) (Diptera: Asilidae) no sul do Brasil, com anotações morfológicas sobre larvas e pupas. **Entomologia y Vectores**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 6, p. 279-294, 1998.

SORIA, S.J.; MORAES, J.E.V. Formigas (Hymenoptera, Formicidae) associadas à *Eurhizococcus brasiliensis* (Homoptera: Margarodidae) no sistema radicular de videiras *Vitis* sp. no Sul do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16., 1997, Salvador. **Resumos...** Salvador, BA, 1997. p. 353.

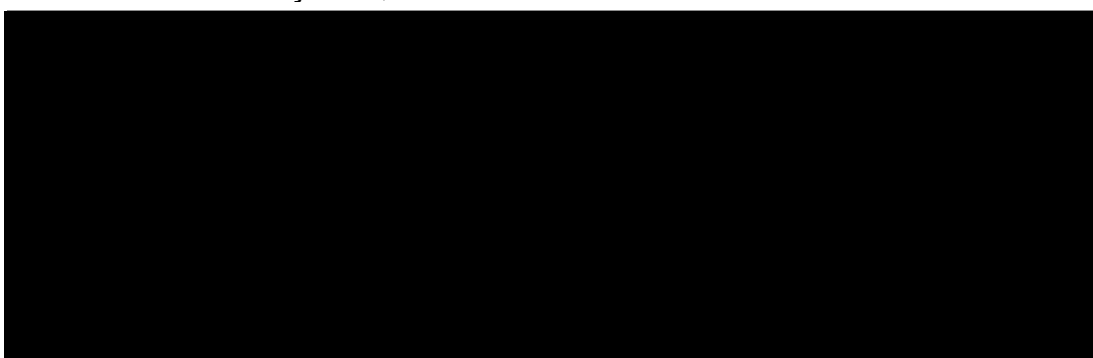
TEDESCO, M.J. *et al.* **Análise de solo, plantas e outros materiais.** 2.ed. Porto Alegre: Departamento de Solos da UFRGS, 1995. 174p. (Boletim Técnico, 5)

TEIXEIRA, I. **Avaliação de inseticidas para o controle da pérola-da-terra *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel, 1922) (Homoptera: Margarodidae) e da cochonilha-parda *Parthenolecanium persicae* (Fabricius, 1776) (Homoptera: Coccidae) na cultura da videira.** Pelotas : UFPel, 2002. 44 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2002.

WILLE, J. *Margarodes brasiliensis* n.sp. **Egatea**, Porto Alegre, v. 7, n. 2, p. 83-85, 1922.

WILLKINS, J.G.; SORIA, S.J. Identification by gás chromatography-mass spectrometry (GC-MS) of the compounds responsible for the rancid odor of female cysts of *Eurhizococcus brasiliensis* (Hempel). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 25, p. 169-170, 1996.

APÊNDICE 1. Normal climatológica e dados meteorológicos registrados durante o ciclo vegetativo da videira, safra 2007. Bento Gonçalves, 2008.



APÊNDICE 2. Protocolo para inclusão em Histoiresina-Jung

(Protocolo utilizado no Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul)

Soluções e reagentes

1. Solução de pré-infiltração:

- a. 10 ml de etanol absoluto
- b. 10 ml de solução de infiltração

2. Solução de infiltração:

- a. 50 ml de resina básica kit Histoiresina-Jung
- b. 0,5 mg de Histoiresina Activator

Desidratação do material fixado em Trump

1. Lavagem em solução tampão fosfato de sódio – 3 x 15 min
2. Desidratação em série etílica 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% e 100% por 30 min em cada concentração
3. Solução etanol/clorofórmio 3:1, 1:1 e 1:3 por 1 h em cada concentração
4. Etanol absoluto por 45 min
5. Solução de pré-infiltração 3:1 over-night
6. Solução de pré-infiltração 1:1 e 1:3 por 4 h em cada concentração
7. Solução de infiltração over-night

Obs: as etapas 2 a 7 são realizadas sob pressão negativa de 500 mm de Hg

8. Montagem do bloco em Histoiresina-Jung e corte

APÊNDICE 3. Coloração de lâminas com Coomassie blue

(Protocolo utilizado no Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul)

Coomassie brilliant blue 0,1% em metanol: água: ácido acético
(25:73:2 v/v)

1. Mergulhar a lâmina de vidro contendo a amostra em solução de coomassie blue por 30 s
2. Enxaguar em água destilada

APÊNDICE 4. Preparo das bagas de uva para análise de teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, cobre, zinco, manganês e boro

(Protocolo utilizado no Laboratório de Análises de Solos e Tecidos da Embrapa Uva e Vinho)

Soluções:

Mistura para digestão ácida: moer 100 g de Na_2SO_4 , 10 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ e 1 g de selênio, misturando bem

H_2SO_4 concentrado

H_2O_2 a 30%

Procedimento de análise:

1. Liquidificar bagas + água (relação 1:1) até obter um líquido pastoso
2. Pipetar 2 ml de amostra em um tubo de digestão (25x250 mm)
3. Adicionar 0,7 g de mistura para digestão
4. Adicionar cuidadosamente 2 ml de H_2SO_4 concentrado
5. Adicionar 1 ml de H_2O_2 a 30%
6. Colocar os tubos de digestão no bloco digestor a 150 °C por 30 min
7. Aumentar a temperatura para 180 °C e manter por 30 min
8. Aumentar a temperatura para 250 °C e manter por 30 min
9. Aumentar a temperatura para 300 °C e manter por 30 min
10. Aumentar a temperatura para 350 °C até o extrato apresentar uma coloração verde claro. Após manter esta temperatura por 1 h

11. Deixar os tubos de digestão esfriarem e completar o volume para 50 ml
12. Agitar o extrato dos tubos manualmente e
13. Determinar os minerais segundo metodologia proposta por Tedesco et al. (1995)

APÊNDICE 5. Extração de amido

(Protocolo utilizado no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Embrapa Uva e Vinho)

Extração de Monossacarídeos (Açúcares Totais e Redutores)

1. Pesar 100 mg de material seco em eppendorf (anotar o valor realmente pesado)
2. Adicionar 1000 µl de etanol 80%
3. Colocar em banho à 80°C por 20 min (agitar a cada 10 min)
4. Centrifugar em 10000 rpm por 5 min .
5. Retirar o sobrenadante e guardar em eppendorf
6. Retornar ao item 2 e repetir 4 vezes o processo.

Extração de Amido

7. Colocar os eppendorf com o pelete na estufa a 70°C aberto por uma noite, para evaporar o etanol
8. Adicionar 500 µl de água destilada
9. Adicionar 100 µl de α -amilase (3000 u/ml Megazyme)
10. Agitar
11. Colocar em banho à 80°C por 60 min (agitar a cada 20 min)
12. Adicionar 500 µl de tampão acetato de sódio 300 mM 4,8 pH
13. Agitar no vortex
14. Adicionar 30 µl de amiloglicosidase (3260u/ml Megazyme)
15. Agitar
16. Colocar em banho à 50°C por 30 min (agitar a cada 15 min)

17. Adicionar 500 µl de ácido perclórico 0,8 M

18. Agitar

19. Centrifugar à 10000 rpm por 5 min

Preparação da Placa de Elisa

Curva Padrão

P 0 - 20 µl de água destilada + 150 µl de GOD POD

P 2,5 - 5 µl de água destilada + 5 µl de padrão de glicose (500 µg/ml)

+ 150 µl de GodPod

P 5 - 10 µl de água destilada + 10 µl de padrão de glicose (500

µg/ml) + 150 µl de GodPod

P 7,5 - 5 µl de água destilada + 15 µl de padrão de glicose (500 µg/ml)

+ 150 µl de GodPod

P 10 - 20 µl de padrão de glicose (500 µg/ml) + 150 µl de GOD POD

Amostras

10 µl de amostra + 10 µl de água destilada + 150 µl de GOD POD

1. Vedar a placa e incubar por 30°C por 15 min

2. Fazer leitura em 490 nm

Cálculo

1. Os valores lidos na placa de Elisa precisam ser divididos por 1000

2. Fazer a média das absorbâncias dentro das repetições

3. Aplicar a fórmula que saiu do gráfico da curva padrão (μg de glicose/ABS 490 nm)

4. Dividir o valor anterior por 1000 para transformar de μg para mg de glicose por 10 μL

5. Multiplicar o resultado anterior por 6500 e dividir por 10, isso dará o valor em mg de glicose por 100 mg de tecido que é a mesma coisa que a porcentagem de glicose no ramo.

6. Para quantificar a porcentagem de amido no tecido, multiplicar o valor obtido anteriormente por 0,9.

APÊNDICE 6. Extração de proteínas totais

(Protocolo utilizado no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Embrapa Uva e Vinho)

Extração

1. Pesar 100 mg de amostra fresca em falcon de 15 ml (anotar o valor real pesado)

2. Adicionar 5 ml de etanol 80%

3. Agitar

4. Colocar em banho à 100°C por 10 min

5. Centrifugar em 4000 rpm por 6 min

6. Esfriar e descartar o sobrenadante

7. Ao pelete adicionar 5 ml de etanol 80%

8. Triturar e lavar o triturador com 3 ml de etanol 80%

9. Centrifugar em 4000 rpm por 8 min

10. Descartar o sobrenadante

11. Ao pelete adicionar 2 ml de clorofórmio/metanol (capela)

12. Agitar

13. Colocar em banho à 50°C por 15 min

14. Centrifugar em 4000 rpm por 6 min

15. Descartar o sobrenadante

REPETIR 3 VEZES

16. Adicionar 1 ml de NaOH 0,1 N

17. Agitar

18. Colocar em banho à 40°C por 20 min
19. Agitar
20. Colocar em banho à 40°C por 20 min
21. Centrifugar em 4000 rpm por 6 min
22. Retirar o sobrenadante e colocando em eppendorf de 2 ml

REPETIR 2 VEZES

23. Centrifugar os eppendorfs em 10000 rpm por 5 min

Preparação da Placa de Elisa

Curva Padrão

P 0 – 50 µl de água destilada + 250 µl de reagente de Bradford

(fotossensível)

P 1 – 4 µl de padrão de BSA (250 µg/ml) + 46 µl de água destilada +
250 µl de reagente de Bradford

P 2 – 8 µl de padrão de BSA (250 µg/ml) + 42 µl de água destilada +
250 µl de reagente de Bradford

P 4 – 16 µl de padrão de BSA (250 µg/ml) + 34 µl de água destilada +
250 µl de reagente de Bradford

P 6 – 24 µl de padrão de BSA (250 µg/ml) + 16 µl de água destilada +
250 µl de reagente de Bradford

P 8 – 32 µl de padrão de BSA (250 µg/ml) + 18 µl de água destilada +
250 µl de reagente de Bradford

P 10 – 40 μl de padrão de BSA (250 $\mu\text{g}/\text{ml}$) + 10 μl de água destilada
+ 250 μl de reagente de Bradford

Amostras

50 μl de amostra + 250 μl de reagente de Bradford

Aguardar 25 min a temperatura ambiente (20°C a 25°C) Se necessário colocar no banho Maria.

Leitura em 630 nm

Cálculo

1. Os valores lidos no Elisa precisam ser divididos por 1000
2. Fazer a média das absorbâncias
3. Aplicar a fórmula que saiu do gráfico da curva padrão (μg de BSA/ABS 630 nm)
4. Dividir o resultado obtido por 1000 para dar o valor em mg de proteína por 50 μL
5. Multiplicar por 2000, dividir por 50 para dar o valor em mg de proteína em 100 mg de tecido, ou seja a porcentagem de proteínas totais no tecido vegetal.

APÊNDICE 7. Protocolo de extração de aminoácidos totais

(Protocolo utilizado no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Embrapa Uva e Vinho)

Extração

1. Pesar 500 mg de amostra fresca em tubo falcon de 15ml (anotar o valor real pesado)
2. Adicionar 5 ml de etanol 80% frio (4°C)
3. Triturar (1 min) lavando com 2,5 ml de água destilada
4. Colocar em banho à 80°C por 15 min
5. Esfriar
6. Adicionar 5 ml de clorofórmio puro
7. Agitar
8. Centrifugar em 4000 rpm por 10 min (13°C)
9. Retirar 1 ml do 1º sobrenadante (aminoácidos e álcool), e medir o seu volume total, e colocar em eppendorf
10. Centrifugar em 10000 rpm por 5 min

Preparação da Placa de Elisa

Curva Padrão

P0 – 100 µl de etanol 50% + 100 µl de reagente de ninhidrina
(fotosensível)

P2 – 4 µl de padrão de leucina (0,5 mg/ml) + 96 µl de etanol 50% +
100 µl de reagente de ninhidrina

P4 – 8 μ l de padrão de leucina (0,5 mg/ml) + 92 μ l de etanol 50% +
100 μ l de reagente de ninhidrina

P8 – 16 μ l de padrão de leucina (0,5 mg/ml) + 84 μ l de etanol 50% +
100 μ l de reagente de ninhidrina

P10 – 20 μ l de padrão de leucina (0,5 mg/ml) + 80 μ l de etanol 50% +
100 μ l de reagente de ninhidrina

Amostras

10 μ l de amostra + 90 μ l de etanol 50% + 100 μ l de reagente de
ninhidrina

Banho à 70°C por 40 min

Agitar levemente e ler em 630 nm

Cálculo

1. Os valores lidos na placa de Elisa precisam ser divididos por 1000
2. Fazer a média das absorbâncias
3. Aplicar a fórmula que saiu do gráfico da curva padrão (μ g de leucina/ABS 630 nm)
4. Multiplicar por 12500, dividir por 10 para dar o valor em mg de aminoácido em 500 mg de tecido.
5. Dividir o valor por 1000 para dar o resultado em mg de aminoácido por 500 mg de tecido.

6. Multiplicar por 100 e dividir por 500 para dar mg de aminoácidos por 100 mg de tecido, ou seja, a porcentagem de aminoácidos totais no tecido.

APÊNDICE 8. Protocolo de extração de clorofilas

(Protocolo utilizado no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Embrapa Uva e Vinho)

Extração de pigmentos

1. Cortar aproximadamente 300 mg de material vegetal fresco (anote o peso) em pequenos pedaços e macerar em gral com 5 ml de acetona 80% (v/v) com CaCO_3 ou MgCO_3 ($0,5 \text{ g} \cdot 0,1 \text{ l}^{-1}$), para evitar danos as clorofilas pelos ácidos orgânicos.

2. Filtre o homogeneizado imediatamente, com papel filtro tipo Whatman N°1, em funil de *Buchner*. Opcionalmente pode ser usado um sistema de aspiração, com os devidos cuidados.

3. Lave o gral com adicionais 5 ml de acetona 80% e filtre, como descrito anteriormente, tomando o cuidado de retirar bem os resíduos de pigmentos do filtro. Repita esta operação até remover completamente os pigmentos verdes, ajuste os volumes finais (geralmente em tubos Falcon de 15 ml) e atente para corrigir o volume no cálculo.

4. Combine os filtrados e complete o volume para um valor conhecido, com acetona 80%. Se a solução com pigmentos estiver leitosa, cubra o frasco com *parafilm* e deixe no refrigerador por 1-2 h, antes de ler no espectrofotômetro faça três repetições por amostra.

5. Meça a absorvância a 645 e 663 nm. Calcule a concentração de Clor α e Clor β de acordo com as equações :

$$\text{Clor } \beta \text{ (mg.g}^{-1}\text{)} = 0,0229 \cdot A_{645} - 0,00468 \cdot A_{663}$$

$$\text{Clor } \alpha \text{ (mg.g}^{-1}\text{)} = 0,0127 \cdot A_{663} - 0,00269 \cdot A_{645}$$

$$\text{Clor total (mg.g}^{-1}\text{)} = 0,0202 \cdot A_{645} + 0,00802 \cdot A_{663}$$

6. Exprese os valores em mg de clorofila.g⁻¹ massa verde.

APÊNDICE 9. Determinação de sólidos solúveis totais (°Brix)

(Protocolo utilizado no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Embrapa Uva e Vinho)

Procedimento de análise:

1. Esmagar as bagas em saco plástico
2. Coar e centrifugar o mosto a 1000 rpm por 5 min
3. Proceder a leitura direta em refratômetro

APÊNDICE 10. Determinação do pH em mosto de uva

(Protocolo utilizado no Laboratório de Enoquímica da Embrapa Uva e Vinho)

Soluções:

Solução tampão pH 3,0

Solução tampão pH 4,0

Procedimento de análise:

1. Calibrar o potenciômetro com os padrões de pH
2. Esmagar as bagas em saco plástico
3. Pipetar 20 ml de mosto para um Becker de 100 ml
4. Mergulhar o eletrodo no mosto e após estabilização realizar a leitura do pH

APÊNDICE 11. Determinação da acidez total titulável em mosto de
uva

(Protocolo utilizado no Laboratório de Enoquímica da Embrapa Uva e
Vinho)

Soluções:

NaOH 0,1 N

Azul de bromotimol: pesar 4 g de azul de bromotimol, transferir para um Becker e diluir em álcool 20%. Transferir para um balão de 1000 ml e completar o volume com H₂O destilada. Armazenar em frasco ambar.

Procedimento de análise:

1. Esmagar as bagas em saco plástico, coar e centrifugar o mosto a 1000 rpm por 5 min
2. Pipetar uma alíquota de 5 ml do mosto para um Erlenmeyer de 250 ml
3. Adicionar 3 gotas do azul de bromotimol
4. Titular com o NaOH 0,1 N até obter uma coloração azul
5. Anotar o volume de NaOH 0,1 N gasto

Acidez total titulável (meq.l⁻¹) = $n \cdot N \cdot 1000 / V$

Onde: n = ml de NaOH gasto na titulação

N = normalidade do hidróxido de sódio

V = volume de mosto utilizado