

INFLUÊNCIA DA LOCALIZAÇÃO DA GEMA NO RAMO SOBRE O ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE PORTA-ENXERTOS DE *Prunus* spp.

INFLUENCE OF THE BUD LOCATION IN THE BRANCH IN THE ESTABLISHMENT *IN VITRO* OF *Prunus* spp. ROOTSTOCKS

ROCHA, Paulo S.G. da¹; SCHUCH, Márcia W.²; BIANCHI, Valmor J.³; MISTURA, Claudete C.⁴

- NOTA TÉCNICA -

RESUMO

No Brasil, os porta-enxertos para fruteiras de caroço, em sua grande maioria, são propagados através de sementes, as quais são provenientes de fábricas de conservas e não apresentam garantias de origem genética e sanitária. Por isso, este trabalho teve como objetivo estabelecer *in vitro* porta-enxertos de pessegueiro e identificar a melhor região do ramo para isolamento dos explantes. Os porta-enxertos Flordaguard, Mr. S. 2/5, Nemaguard e Nemared, mantidos em casa de vegetação, foram utilizados para isolamento de segmentos de ramos com 15 cm de comprimento, separados em dois grupos, de 0-15 cm e de 15-30 cm, a partir do ápice do ramo. Os explantes (segmentos nodais) foram desinfestados em álcool 70% e hipoclorito de sódio 1,5%, e em seguida foram cortados com aproximadamente 1,0 cm de comprimento, os quais foram inoculados em tubos com 8 mL de meio MS acrescidos de 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de mio-inositol, 0,75 mg L⁻¹ de BAP, 0,5 mg L⁻¹ de GA₃, 7,0 g L⁻¹ de ágar e pH 5,8. Os quatro porta-enxertos inoculados no meio de estabelecimento iniciaram a brotação a partir do décimo dia de cultivo. Verificou-se que a região de coleta dos explantes não influenciou o percentual de estabelecimento, com exceção da cv. Nemaguard. As maiores porcentagens de estabelecimento com os explantes retirados da porção apical do ramo (100% e 63,11%) ocorreram com as cvs. Mr. S. 2/5 e Nemared. As porcentagens de estabelecimento das cvs. Mr. S. 2/5, Nemared e Nemaguard (98,3%, 80,55% e 80,54%), obtidas a partir dos explantes da porção basal, foram iguais entre si e superiores a cv. Flordaguard (37,29%). A percentagem de contaminação dos explantes durante a fase de estabelecimento foi reduzida, sendo de 1% para a contaminação bacteriana e 2% para fúngica. Entretanto, não existiu diferença entre a região de coleta do explante.

Palavras-chave: pessegueiro, porta-enxerto, cultura de tecidos

A cultura do pessegueiro possui uma grande importância sócio-econômica nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, a qual apresenta uma produção estimada de 150 mil t. Nos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina estão localizados os maiores plantios de pessegueiro do país, os quais representam, juntos, uma área de aproximadamente 16,4 mil ha (SILVA et al., 2003).

A utilização de mudas de boa qualidade é de grande importância para a implantação de pomares comerciais. Entretanto, a forma de propagação de porta-enxertos utilizados na região é através de sementes, a qual não é a mais adequada e nem atende as exigências básicas, principalmente devido ao número insuficiente de sementes das cultivares desejadas pelos produtores de pêssego e a falta de qualidade genética e sanitária das mesmas (RODRIGUES et

al., 2003). Outras formas de propagação para os porta-enxertos de pessegueiro podem ser realizadas, tais como a estaquia e a cultura de tecidos.

Na multiplicação por estaquia, um dos pontos de estrangulamento é a baixa capacidade de enraizamento que ocorre com a maioria das cultivares de pessegueiro (RUFATO & KERSTEN, 2000). Por outro lado, o potencial da técnica de cultura de tecidos para obtenção de porta-enxertos de pessegueiro já foi confirmado por alguns autores (HAMMERCHLAG, 1982; RADICE et al., 1999; SILVEIRA et al., 2001; RODRIGUES et al., 2003; SILVA et al., 2003). Apesar disso, no Brasil o número de trabalhos com micropropagação de porta-enxertos para *Prunus* spp. ainda são incipientes e carecem de mais estudos para que se possa permitir a micropropagação dos mesmos em larga escala.

Um dos problemas apresentados pela micropropagação de pessegueiro tem sido a alta taxa de contaminação dos explantes na fase de estabelecimento *in vitro* (RODRIGUES et al., 2003) e a reduzida taxa de multiplicação dos explantes estabelecidos (SILVEIRA et al., 2001).

Com isso, este trabalho teve como objetivo estabelecer *in vitro* quatro porta-enxertos de pessegueiro e identificar a melhor porção do ramo para isolamento dos explantes, a fim de obter material livre de contaminação e maior percentagem de estabelecimento *in vitro* para posteriores experimentos de multiplicação.

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas do Departamento de Botânica/Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS, em dezembro de 2003.

Plantas dos porta-enxertos Flordaguard, Mr. S. 2/5, Nemaguard e Nemared, mantidas em casa de vegetação, foram pulverizadas semanalmente com Terramicina (2,4 g L⁻¹) e Benomyl (1,0 g L⁻¹) antes da coleta das brotações.

De cada porta-enxerto foram coletados ramos com 30 cm de comprimento, os quais foram separados em dois grupos. O primeiro grupo foi retirado do ápice do ramo (0-15 cm – porção apical) e o segundo logo abaixo do ponto do corte (15-30 cm – porção basal). Os ramos coletados foram desfolhados e levados para câmara de fluxo laminar onde procedeu-se à desinfestação com álcool 70%, por 1 min, e hipoclorito de sódio 1,5%, durante 15 min. Após a desinfestação, o material foi enxaguado três vezes com água destilada autoclavada e procedeu-se ao isolamento dos segmentos nodais com aproximadamente 1 cm de comprimento.

¹ Engº. Agrº. M.Sc. Doutorando do PPGA, Área de concentração em Fruticultura de Clima Temperado, FAEM/UFPel – C.P. 354, 96010-900, Pelotas-RS; E-mail: rocha@ufpel.tche.br

² Engº. Agrº., Drª., Profª. do Deptº. de Fitotecnia. FAEM/UFPel, Pelotas, RS.

³ Engº. Agrº. Dr. Bolsista do PRODOC/ CAPES, Profº do Deptº. de Fitotecnia. FAEM/UFPel, Pelotas, RS.

⁴ Engº. Agrº, Estagiária do Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas do Deptº de Botânica/IB, UFPel.

Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio com 8 mL de meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de mio-inositol, 0,75 mg L⁻¹ de BAP, 0,5 mg L⁻¹ de GA₃ e 7,0 g L⁻¹ de ágar. Antes da adição do ágar o pH do meio foi ajustado para 5,8. Depois de inoculado, o material foi mantido durante sete dias em ambiente escuro com temperatura de 25 ± 1°C. Após este período, foi transferido para sala de crescimento com temperatura de 25 ± 1°C, 16 h de fotoperíodo e luminosidade de 25 µmol.m⁻². s⁻¹.

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados com quatro repetições por tratamento, sendo a unidade experimental, em cada repetição, composta por seis tubos de ensaio contendo um explante por tubo. As variáveis analisadas ao final de 30 dias de cultivo foram: porcentagem de contaminação bacteriana e fúngica, porcentagem de estabelecimento e porcentagem de oxidação.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Duncan a 5%, através do Programa Estatístico Sanest (ZONTA & MACHADO, 1987). Os dados de porcentagem foram transformados em arco seno $\sqrt{(x+100)}$.

Observou-se que os explantes iniciaram a brotação a partir do décimo dia de cultivo. Esse rápido início da brotação provavelmente esteja relacionado à época de coleta, ou seja, verão, período em que a planta matriz se encontrava em ativo crescimento vegetativo. Este resultado está de acordo com RODRIGUES et al. (2003), que compararam o efeito da época de coleta (verão e outono) e também verificaram que o percentual de estabelecimento e de brotações dos explantes dos porta-enxertos Marianna e GF 677 foram maiores quando coletadas no verão.

Verificou-se que os segmentos nodais retirados da porção basal dos ramos do porta-enxerto cv. Nemaguard apresentaram uma porcentagem de estabelecimento superior aos segmentos obtidos da porção apical da brotação da planta matriz (Tabela 1). Possivelmente, na época de coleta (verão) as gemas da porção apical do ramo não estavam completamente formadas e, deste modo, interferiram negativamente na formação da brotação durante o estabelecimento *in vitro* dos porta-enxertos.

Tabela 1 - Porcentagem de estabelecimento *in vitro* dos explantes provenientes de duas diferentes porções de ramos de porta-enxertos de *Prunus* spp.

Porta-enxerto	Porção do ramo	
	Apical (0-15 cm)	Basal (15-30 cm)
Mr. S. 2/5	100,00 aA	98,30 aA
Nemared	63,11 bA	80,55 aA
Flordaguard	19,80 cA	37,29 bA
Nemaguard	2,01 cB	80,54 aA

Médias seguida de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

De acordo com VILLALOBOS & THORPE (1991), o estado fisiológico da planta influencia a capacidade morfogenética, de modo que o requerimento nutricional e hormonal também é diferente em tecidos provenientes de diferentes idades fisiológicas da planta. Outro fator importante é a posição relativa da gema. BRESSAN et al. (1982) observaram que as gemas axilares de roseiras, obtidas da

parte média do ramo, se desenvolveram mais rapidamente do que aquelas da porção apical.

Comparando-se o percentual de estabelecimento entre os porta-enxertos observou-se que a cv. Mr. S. 2/5 apresentou a maior porcentagem de brotações estabelecidas, independente da porção do ramo de onde foram retirados os segmentos (Tabela 1). Isto ocorreu provavelmente porque a formação e a maturação das gemas axilares foram mais precoces e uniformes, para a mesma época de coleta dos ramos, em relação às demais cultivares avaliadas, contribuindo desta forma na maximização do estabelecimento *in vitro* das brotações, não havendo interferência da porção do ramo.

Os resultados obtidos mostram que a cv. Mr. S. 2/5 apresenta um excelente potencial para micropropagação *in vitro*. Resultados semelhantes aos obtidos com Mr. S. 2/5 foram observados nas cvs. Nemared e Nemaguard quando se utilizou os explantes retirados da porções basal do ramo (Tabela 1).

Os explantes da cv. Nemaguard, retirados da região apical, tiveram um baixo percentual de estabelecimento (2%) quando comparado com os explantes da porção basal (80%).

A menor porcentagem média de estabelecimento entre as cultivares foi obtida com a cv. Flordaguard, fazendo exceção apenas o explante da cv. Nemaguard retirado da porção apical (Tabela 1). Nas condições em que se desenvolveu este experimento, pode-se afirmar que os porta-enxertos estudados possuem diferentes potenciais para micropropagação. Além disso, a melhor região de coleta do ramo pode variar para cada porta-enxerto.

A contaminação dos explantes durante a fase de estabelecimento foi baixa, sendo verificado 1% de contaminação causada por bactéria e 2% causada por fungo. Estes resultados são inferiores aos obtidos por RODRIGUES et al. (2003), que trabalhando com os porta-enxertos Mirabolano, Okinawa e Nemaguard, coletados de plantas mantidas no campo, verificaram perdas por contaminação de 76%, 66% e 63%.

O reduzido percentual de contaminação comprova que o método utilizado neste experimento (plantas mantidas em casa de vegetação e realização de controle fitossanitário sistemático) é eficiente para obter maior percentual de explantes estabelecidos *in vitro* dos porta-enxertos Flordaguard, Mr. S. 2/5, Nemaguard e Nemared. De acordo com GRATTAPAGLIA & MACHADO (1998), a planta mantida em casa de vegetação e/ou telado permite o maior controle de microorganismos e insetos, além de facilitar a descontaminação dos explantes.

Não foi observado oxidação nos explantes dos porta-enxertos utilizados. A concentração de hipoclorito de sódio utilizada e o tempo de desinfestação, provavelmente permitiram obter baixo percentual de contaminação e não causaram a morte dos explantes por oxidação. RODRIGUES et al. (2003), trabalhando com dez porta-enxertos de pessegueiro, obtiveram elevados percentuais de oxidação, de modo que em algumas cultivares as perdas por oxidação nos segmentos nodais foram de 40%.

Nas condições em que foram desenvolvidas o trabalho, pode-se concluir que as porcentagens de estabelecimento *in vitro* dos porta-enxerto Mr. S. 2/5, Nemared e flordaguard não são influenciadas pelo local de coleta do explante no ramo. Para o porta-enxerto Nemaguard a melhor região do ramo para coleta do explante é a basal. Além disso, é possível obter

o estabelecimento das brotações a partir das duas regiões de coleta dos ramos, com exceção da cv. Nema-guard.

ABSTRACT

In Brazil, the rootstocks for stone fruit, in the majority, are propagated through seeds, which come from tinned cannery and hasn't shown guaranties of sanity and genetic origin. In this sense, this work had the aim of establishing rootstocks *in vitro* of peach tree and identify the best branch region for the explants isolament. Rootstocks Flordaguard, Mr. S. 2/5, Nema-guard and Nemared, maintained in greenhouse, were used for the isolation of branch segments with 15 cm of length, separated in two groups, one of 0-15 cm and another of 15-30 cm, from the branch apices. The explants (nodal segments) were desinfestated in alcohol 70% and sodium hypo chloride 1.5%, then were cut with nearly 1 cm of length, which were inoculated in tubes with 8 mL of media MS added by 30 g L⁻¹ of sucrose, 100 mg.L⁻¹ of mio-inositol, 0.75 mg L⁻¹ of BAP, 0.5 mg L⁻¹ of GA₃, 7 g L⁻¹ of agar and pH 5.8. The four rootstocks inoculated in media of establishment started the shooting from the tenth day of cultivation. It was observed that the reaping region had no influence in establishment percentage, exception done to the cv. Nema-guard. The highest establishment percentage, with the explants taken from the apices portion of the branch (100% and 63.11%), has occurred with the cvs. Mr. S 2/5, and Nemared and Nema-guard (98.3%, 80.55% and 80.54%), obtained from the explants of the base portion, were equal to se and higher than the cv. Flordaguard (376.29%). The contamination percentage of the explants during the establishment phase was reduced, being of 1% for the bacterial contamination and 2% fungal, however there was no difference between the reaping regions of the explant.

Key words: peach tree, rootstocks, tissue culture

REFERÊNCIAS

- BRESSAN, P.H.; KIM, Y.K.; HYNDAM, S.E.; HASEGAWA, P.M.; BRESSAN, R.A. Factors affecting *in vitro* propagation of rose. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.6, n.107, p.979-990, 1982.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. Eds. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, 1998. p.183-260,v.1.
- HAMMERCHLAG, F. Factors affecting establishment and growth of peach shoots *in vitro*. **Hortscience**, Alexandria, v.17, n.1, p.85-86, 1982.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- RADICE, S.; PERELMAN, P.E; CASO, O.H. Clonal propagation of three rootstocks of the genus *Prunus* for the Flooding Pampa. **Phyton-international Journal of Experimental Botany**, Buenos Aires, v.64, p.149-156, 1999.
- RODRIGUES, A.C.; SILVEIRA, C.A.P.; FORTES, G.R. de L.; FACHINELLO, J.C.; SILVA, J.B. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Prunus* sp. em diferentes meios de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.1, p.131-133, 2003.
- RUFATO, L; KERSTEN, E. Enraizamento de estacas de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch), cvs Esmeralda e BR2, submetidas à estratificação e ao ácido indolbutírico, **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.22, n.2, p.191-194, 2000.
- SILVA, A.L.; RAGALSK, M.; MORAES, L.K.A.; FESBILINO, C; CRESTANI, L.; GUERRA, M.P. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de porta-enxertos de *Prunus* sp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.2, p.297-300, 2003.
- SILVEIRA, C.A.P.; FACHINELLO, J.C.; FORTES, G.R. de L.; CITADIN, I.; RODRIGUES, A.C.; QUEZADA, A.C.; SILVA, J.B. da. Multiplicação *in vitro* de porta-enxertos do gênero *Prunus* sob diferentes concentrações de BAP em dois meios de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.3, p.488-492, 2001.
- VILLALOBOS, A.; THORPE, T.A. Micropropagación: conceptos, metodología y resultados. In: W.M. MROGINSKI, L.A. **Cultivo de tejidos em la agricultura: fundamentos y aplicaciones**. Cali- Colômbia: Ciat (Centro Internacional de Agricultura Tropical), 1991, p.127-141.
- ZONTA, E. P.; MACHADO, A. A. **Sanest – Sistema de análise estatística para microcomputadores**. Pelotas: DMEC/IFM/UFPel, 1987. 138p.