

## OTIMIZAÇÃO DA MULTIPLICAÇÃO IN VITRO DO PORTA-ENXERTO DE PESSEGUEIRO 'TSUKUBA II' EM RESPOSTA A AÇÃO SINÉRGICA DE 6- BENZILAMINOPURINA E CINETINA

VANESSA ROCHA DA SILVA<sup>1</sup>; JÚLIA MELO ARIMA PERRI<sup>2</sup>;  
SIMONE RIBEIRO LUCHO<sup>3</sup>; VALMOR JOÃO BIANCHI<sup>4</sup>;

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [vanessa\\_rocha88@hotmail.com](mailto:vanessa_rocha88@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [julia.mello812@gmail.com](mailto:julia.mello812@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [simonibelmonte@gmail.com](mailto:simonibelmonte@gmail.com)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – [valmorjb@yahoo.com](mailto:valmorjb@yahoo.com)

### 1. INTRODUÇÃO

O pessegueiro [*Prunus persica* L. (Bastch)] é de origem Chinesa, pertence à família Rosaceae e ao gênero *Prunus*, tendo importância econômica relevante no Brasil, principalmente no Rio Grande do Sul, que é responsável por aproximadamente 65% da produção Nacional (ATLAS SOCIOECONÔMICO, 2020). A produção desta frutífera é um desafio para os produtores devido às dificuldades de adaptação das cultivares-copa ao clima e emprego de porta-enxertos inadequados, sem identidade genética conhecida (MAYER et al., 2015).

A produção de mudas é feita por enxertia, quase em totalidade, usando porta-enxertos obtidos de caroços de cultivares-copa, que podem apresentar uma taxa de polinização cruzada que pode chegar a 33% (MILLER et al., 1989), portanto contendo alta variabilidade genética, que é indesejável para porta-enxertos. O ideal é utilizar porta-enxertos clonados que apresentem boa compatibilidade de enxertia com as cultivares-copa.

A micropropagação in vitro é uma ferramenta útil para propagar de forma rápida e em grande quantidade porta-enxertos do gênero *Prunus*, utilizando pouco espaço físico (RITTERBUSCH et al., 2020). No caso de porta-enxertos de pessegueiro, na medida em que se faz sucessivos subcultivos, podem ocorrer problemas morfogênicos, como por exemplo, o definhamento dos explantes in vitro. JAIN et al. (2009) também relataram este problema em *Harpagophytum procumbens*.

Alguns fatores têm sido apontados como causadores deste definhamento, dentre eles estão a hiperhidricidade, redução da formação e crescimento de brotos (RADMANN et al., 2009) e a necrose dos meristemas apicais, sendo este último um limitador importante para a manutenção de estoque de explantes para novas multiplicações, enraizamento e obtenção de plântulas para a comercialização (SHA et al., 1985). BARGHCHI; ALDERSON (1996) relacionaram a necrose do meristema apical dos explantes com a deficiência de cálcio e/ou boro, também mencionado por TEIXEIRA et al. (2020), que reforçaram a ideia de que as trocas de meio com diferentes concentrações de nutrientes e reguladores de crescimento ao longo dos subcultivos pode causar danos fisiológicos aos explantes.

De fato, existe a necessidade de desenvolver e aprimorar protocolos de multiplicação in vitro para os porta-enxertos de pessegueiro visando superar os problemas acima relatados e que atualmente estão prejudicando a manutenção in vitro deste material vegetal após alguns subcultivos dos explantes.

A partir dessa premissa, o presente estudo objetivou avaliar os efeitos de diferentes concentrações combinadas de 6-Benzilaminopurina (BAP) e Cinetina (KIN) na multiplicação da cultivar de porta-enxerto de pessegueiro Tsukuba II.

## 2. METODOLOGIA

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pelotas. Foram utilizados explantes do porta-enxerto de Pessegueiro Tsukuba II [*Prunus persica* L. (Bastch)], em sétimo subcultivo, com aproximadamente 2 cm de comprimento, anteriormente multiplicados em meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), contendo 7 g L<sup>-1</sup> de ágar, 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 0,4 g L<sup>-1</sup> de BAP, 0,3 g L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>, 0,05 g L<sup>-1</sup> de AIB e pH 5,8. Para o experimento de multiplicação, os explantes foram inoculados em meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), utilizando-se a metade da dose das soluções A, B e D, e as demais em dose completa, contendo 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 8 g L<sup>-1</sup> de ágar, 0,25 g L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>, 0,05 g L<sup>-1</sup> de AIB e as seguintes concentrações combinadas de BAP e Cinetina (g L<sup>-1</sup>), respectivamente: 0,6 + 0,0; 0,4 + 0,1; 0,2 + 0,2; 0,1 + 0,4; 0,0 + 0,6. Após a inoculação, os frascos foram mantidos em fotoperíodo de 16 horas (densidade de fluxo luminoso de 48 µmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>), e temperatura de 25° ± 2°C em sala de crescimento.

Foram utilizados cinco tratamentos, com três repetições, cada uma representada por um frasco contendo quatro explantes (unidade experimental). Aos 22 dias de cultivo foram avaliadas a porcentagem de explantes com brotações laterais, o número médio de brotos laterais por explante brotado, o tamanho médio das brotações laterais (cm) e o tamanho médio dos explantes (cm). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Realizou-se a análise de variância (*F-test*) dos dados e, quando significativo, o teste de Tukey (*p* < 0,05) foi aplicado utilizando o software SISVAR (FERREIRA, 2011).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância, somente verificou-se diferenças (*P* < 0,05) para as respostas morfogênicas relacionadas ao número médio de brotos laterais por explante brotado e tamanho médio dos explantes (TABELA 1).

O maior número médio de brotações laterais (2,6 ± 0,1) foi observado no tratamento M3, presença de 2 mg L<sup>-1</sup> de BAP e KIN (TABELA 1), diferindo somente em relação ao tratamento M2, sugerindo que os dois reguladores atuam de forma sinérgica e benéfica sobre este parâmetro. Esta notação também foi inferida por RITTERBUSCH et al. (2020), ao avaliarem o efeito destes reguladores sobre a taxa de multiplicação e alongamento in vitro de explantes do porta-enxerto de pessegueiro 'GxN-9'. Por outro lado, SRIVASTAVA; JOSHI (2009) demonstraram que a concentração de KIN deve ser maior do que a de BAP para a otimização da formação e alongamento dos explantes de *Portulaca grandiflora*. Estes resultados sugerem que cada genótipo tem um tipo e concentração ideal de citocinina. De acordo com PHILLIPS; GARDA (2019) essas diferenças devem-se a interação de fitormônios endógenos com os fornecidos exogenamente afetando cada genótipo distintamente.

Quanto ao tamanho médio dos explantes os maiores valores (3,7 ± 0,0 cm) foram também observados no tratamento M3 (TABELA 1). Esse resultado reforça a necessidade da presença de ambos os reguladores para a otimização da multiplicação in vitro de porta-enxerto de pessegueiro 'Tsukuba II'.

**TABELA 1** - Efeito de diferentes concentrações de citocininas (BAP e KIN) sobre a multiplicação in vitro de porta-enxerto de pessegueiro 'Tsukuba II'

Meio MS	mg L <sup>-1</sup>		*% explantes com brotações laterais	Nº médio de brotos laterais por explantes brotado	*Tamanho médio das brotações laterais (cm)	*Tamanho médio dos explantes (cm)
	BAP	KIN				
M <sub>1</sub>	0,6	0,0	58,3 ± 4,8**	2,2 ± 0,3 ab	0,9 ± 0,0**	2,8 ± 0,0 b
M <sub>2</sub>	0,4	0,1	50,0 ± 8,3	1,0 ± 0,1 b	0,9 ± 0,0	3,2 ± 0,0 ab
M <sub>3</sub>	0,2	0,2	50,0 ± 0,0	2,6 ± 0,1 a	0,7 ± 0,1	3,7 ± 0,0 a
M <sub>4</sub>	0,1	0,4	50,0 ± 0,0	1,5 ± 0,1 ab	0,7 ± 0,0	2,8 ± 0,1 b
M <sub>5</sub>	0,0	0,6	3,3 ± 4,8	1,3 ± 0,1 ab	0,8 ± 0,0	2,9 ± 0,0 b
Média			42,3 ± 3,6	1,7 ± 0,2	0,8 ± 0,1	3,1 ± 0,1
CV (%)			33,3	34,5	29,9	7,3

\* Por explante inicial

Os valores representam média ± desvio padrão de 3 repetições.

Os valores médios na coluna que compartilham letras diferentes indicam diferenças estatísticas com base na ANOVA seguida pelo teste de Tukey P ≤ 0,05.

\*\*Médias na coluna não diferem com base na ANOVA.

6-Benzilaminopurina (BAP); Cinetina (KIN); coeficiente de variação (CV)

Não houve diferenças para a porcentagem de explantes com brotações laterais e para o tamanho médio das brotações laterais, cujos valores médios foram de 42,3% e 0,8 cm, respectivamente, resultados que podem ter interferência de outros fatores como condições gerais dos explantes após sete subcultivos sucessivos. De um modo geral, o uso combinado dos dois tipos de citocininas (BAP e KIN) propiciou bons resultados em termos de multiplicação e alongamento dos explantes, como pode ser visto na figura FIGURA 1. Nas condições testadas, não se registrou ocorrência de necrose nos ápices das brotações, que é um problema recorrente no cultivo in vitro de diferentes espécies de *Prunus*. Somado a isso, vale destacar que o tratamento M3 mostrou-se eficiente para promover o alongamento dos explantes, característica necessária quando o material vegetal será destinado para a fase de enraizamento.



**FIGURA 1** – Morfologia dos explantes de porta-enxerto de pessegueiro Tsukuba II cultivados em meio MS e suplementados com 0,2 mg L<sup>-1</sup> de BAP e KIN (M<sub>3</sub>) após 22 dias de cultivo. (a) Aspecto geral dos explantes em frascos de subcultivos e (b) isolados em placas de petri.

#### 4. CONCLUSÕES

O uso combinado de BAP e Cinetina favorece a indução de brotações axilares e o alongamento de explantes do porta-enxerto 'Tsukuba II' in vitro, não comprometendo o vigor dos explantes, para o sucessivo subcultivo.



## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATLAS SOCIOECONÔMICO RIO GRANDE DO SUL. Disponível em <https://atlassocioeconomico.rs.gov.br/pessegueo-e-banana>. Acesso em 13 de agosto de 2020.
- BARGHCHI, M.; ALDERSON, P. G. The control of shoot tip necrosis in *Pistacia vera* L. In vitro. **Plant Growth Regulation**, v.20, p.31-35, 1996.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.1039-1042, 2011.
- JAIN, N.; BAIRU, M.W.; STIRK, W.A.; STADEN, J.V. The effect of medium, carbon source and explant on regeneration and control of shoot-tip necrosis in *Harpagophytum procumbens*. **South African Journal of Botany**, p.75, 117–121, 2009.
- MAYER, N.A.; UENO, B.; FICHER, C.; MIGLIORINI, L.C. **Porta-enxertos clonais na produção de mudas de frutíferas de caroço**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Embrapa Clima Temperado. Pelotas, RS. 2015.
- MILLER, P.J.; PARFITT, D.E.; WEINBAUM, S.A. Outcrossing in peach. **HortScience**, v.24, p.359-360, 1989.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised médium for rapid growth and biomassay with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, n.3, p.473-479, 1962.
- PHILLIPS, G.C.; GARDA, M. Plant tissue culture media and practices: An overview. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v.55, p.242–257, 2019.
- RADMANN, E.B.; BIANCHI, V.J.; OLIVEIRA, R.P.; FACHINELLO, J.C. Multiplicação in vitro e alongamento das brotações micropropagadas do porta-enxerto 'Tsukuba 1' (*Prunus persica* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.31, p.656–663, 2009.
- RITTERBUSCH, C.W.; LUCHO, S.R.; RADMANN, E.B.; BIANCHI, V.J. Effect of cytokinins, carbohydrate source and auxins on in vitro propagation of the 'G × N-9' peach rootstock. **International Journal of Fruit Science**, v.21, p.1-13, 2020.
- SHA, L.; MCCOOWN, B.H.; PETERSON, L.A. Occurrence and cause of shoot-tip necrosis in shoot cultures. **Journal American Society Horticultural Science**, v.110, p.631–634, 1985.
- SILVA, J.A.T.; NEZAMI-ALANAGH, E.; BARREAL, M.E.; KHER, M.M.; WICAKSONO, A.; GULYAS, A.; GALLEGÓ P.P.; DRIVER, J.A.; DOBRANSZKI, J. Shoot tip necrosis of in vitro plant cultures: a reappraisal of possible causes and solutions. **Planta**, v.252, p.1-35, 2020.
- SRIVASTAVA, A.; JOSHI, A.G. In vitro behavior of nodal explants of *Portulaca grandiflora* under the influence of cytokinins. **Acta Universitatis Latviensis**, v.753, p.43–48, 2009.