

REVISTA BRASILEIRA DE
AGROCIÊNCIA

Revista Técnico-Científica



VOLUME 10 - NÚMERO 1

jan-mar. 2004

PELOTAS - RS

EDITORA UNIVERSITÁRIA

R. bras. Agrociência

Pelotas - RS

v.10

n.1

p.001-140

jan-mar. 2004

EFEITO DA LUZ NA MICROPROPAGAÇÃO DE CLONES DA SÉRIE I.S. - PORTA-ENXERTOS PARA *Prunus* spp.

EFFECT OF LIGHT IN THE MICROPROPAGATION OF CLONES SERIES I.S. - *Prunus* SPP. ROOTSTOCKS

DE ROSSI, Andrea¹; RUFATO, Leo¹; FIASCHI, Grazia²; MORINI, Stefano³; LORETI, Filiberto³

RESUMO

O principal problema na micropropagação dos clones da série I.S. é a dificuldade de alongamento dos entrenós. Esta série de clones foi desenvolvida no Dipartimento de Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose G. Scaramuzzi" pertencente à "Università Degli Studi di Pisa". O objetivo do trabalho foi melhorar a resposta proliferativa e de alongamento dos explantes dos clones da série I.S. 5/18, 5/23 e 5/14 com a aplicação de diferentes qualidades, quantidades, e intensidades de luz. Para tanto foram utilizados ápices vegetativos com cerca 1 cm de comprimento. Estes explantes foram submetidos a 5 tratamentos: 1) controle (luz fluorescente Philips TLD 18W/33), 2) luz incandescente, 3) redução da intensidade luminosa (30% menos que o controle), 4) fotoperíodo de 16/8 horas e 5) luz vermelha. O delineamento experimental utilizado foi completamente casualizado, com 15 repetições por tratamento. Os resultados foram submetidos à comparação de médias através do Teste de Duncan. Após 60 dias da instalação do experimento foram avaliados o número médio de brotações desenvolvidas, número médio de gemas por brotação, comprimento dos internós, grau de vitrificação e intensidade da coloração verde das culturas. O tratamento com luz incandescente aumentou o comprimento dos internós para o clone I.S. 5/18 e reduziu a vitrescência e a intensidade de coloração verde para os três clones. A luz vermelha reduziu a taxa proliferativa dos clones da série I. S.

Palavras-chave: alongamento, intensidade luminosa, luz vermelha, propagação *in vitro*, pessegueiro.

INTRODUÇÃO

Nos anos 60 foi iniciado no "Dipartimento de Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose G. Scaramuzzi" pertencente à "Università Degli Studi di Pisa", na Itália um programa de melhoramento genético que resultou, principalmente para a cultura do pessegueiro, na seleção de clones e linhagens interessantes, como as séries P.S. e I.S. Os clones da série I.S. são resultantes de uma população obtida por livre polinização do híbrido pêsego x amêndoa GF 557 (*Prunus persica* x *P. davidiana*) (LORETI & MASSAI, 1998) que são, como o porta-enxerto francês GF 677, resistentes a solos calcários e, sobretudo, apresentam a vantagem de induzir graus diversos de vigor à copa com relação ao GF 677, podendo ser recomendados, como alternativa ao GF 677 em pomares em alta densidade. De acordo com LORETI & MASSAI (1994), os clones I.S. 5/18 e I.S. 5/23 e I.S. 5/14 apresentam redução do vigor que varia de 20% a 30% quando comparados ao GF 677, porém o enraizamento destes clones através de estacas lenhosas pode ser considerado escasso, não ultrapassando 35% (LORETI & MASSAI, 1994).

De acordo com as observações realizadas até o momento com outros clones da série I.S. (ex. Sírio), a micropropagação se mostra uma alternativa viável, podendo ser considerada satisfatória. Contudo, estes clones apresentam dificuldade de alongamento dos entrenós, resultando em plântulas muito compactas (MORINI, 2003 – Informação Verbal). A dificuldade de alongamento dos entrenós, nas culturas *in vitro*, pode estar relacionada, além do balanço hormonal, a fatores externos. Resultados de vários estudos (HAMMERCHLAG, 1982; ECONOMOU & READ, 1987; MORINI et al., 1989; GABRYSZEWSKA, 2001) evidenciaram o efeito dos fatores externos na micropropagação, podendo dar lugar a resultados muito diversos do ponto de vista prático. FARINA et al. (2001), estudando os efeitos da luz incandescente sobre uma cultivar de Aster observaram que esta determina uma alteração na arquitetura da planta.

O objetivo do presente trabalho foi melhorar a resposta proliferativa e de alongamento dos explantes dos clones da série I.S. 5/18, 5/23 e 5/14 com a aplicação de diferentes qualidades, quantidades e intensidades de luz.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Micropropagação do Departamento de "Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose G. Scaramuzzi" pertencente a "Università degli Studi di Pisa", Itália. Foram utilizados ápices vegetativos das seleções de porta-enxertos da série I.S. 5/18, I.S. 5/14 e I.S. 5/23, com cerca 1 cm de comprimento, retirados de plantas mantidas em cultura *in vitro*. Os explantes foram submetidos a 5 tratamentos: 1) controle (luz fluorescente Philips TLD 18W/33), 2) luz incandescente, 3) redução da intensidade luminosa (30% menos que o controle), 4) fotoperíodo de 16/8 horas e 5) luz vermelha.

Na fase de proliferação, o meio de cultura utilizado foi o MS (MURASHIGHE & SKOOG, 1962), com a adição de cinetina (1 mg L^{-1}) e ácido naftaleno acético ($0,05 \text{ mg L}^{-1}$). Durante esta fase foram realizados 3 subcultivos, em intervalo de 15 dias entre cada subcultivo.

Na fase de alongamento, as culturas foram desenvolvidas em meio MS, sendo que os macronutrientes foram adicionados nas seguintes proporções: 75 mL L^{-1} de macronutrientes do meio MS e 25 mL L^{-1} dos macronutrientes do meio WPM, sugerido por LLOYD & MCCOWN (1980). No meio de cultura foi adicionado 1 mg L^{-1} de cinetina. Nas duas fases de cultivo o pH dos meios de cultura foi ajustado para

¹ Eng. Agr. Doutorandos do PPGA, Área de Concentração em Fruticultura de Clima Temperado, FAEM/UFPel. Cx. Postal 354, 96010-900 e-mail: derossiandrea@yahoo.com.br

² Química. Facoltà di Agrária dell'Università degli Studi di Pisa, Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose "G.Scaramuzzi". Via del Borghetto, 80. CAP 56124, Pisa – Itália.

³ Eng. Agr. Professores da Facoltà di Agrária dell'Università degli Studi di Pisa, Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose "G.Scaramuzzi". Via del Borghetto, 80. CAP 56124, Pisa – Itália. loreti@agr.unipi.it

(Recebido para Publicação em 14/04/2003, Aprovado em 02/03/2004)

5,3 antes da dissolução dos geleificantes (ágar e pectina) e foram autoclavados a 120°C por 15 minutos.

O delineamento experimental utilizado foi o completamente casualizado, com 15 repetições por tratamento, num fatorial 5 x 3 (tratamentos x clones). Os resultados foram submetidos à comparação de médias através do Teste de Duncan.

Após 60 dias da instalação do experimento foram avaliados o número médio de brotações desenvolvidas, número médio de gemas por brotação, comprimento dos internós, grau de vitrificação e intensidade da coloração verde das culturas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a variável número médio de brotações, observou-se que o efeito dos tratamentos não foi significativo para os clones I.S. 5/18 e 5/14. Para o clone I.S. 5/23, os tratamentos com luz incandescente e fotoperíodo de 16/8h resultaram em maior número de brotações (Figura 1). MORINI et al. (1989),

estudando o efeito de diferentes fotoperíodos na micropropagação do porta-enxerto Mr.S 2/5, observaram que o número total de brotações é reduzido com a redução do fotoperíodo e que um fotoperíodo de 16 horas resulta em maior número de brotações comparado aos fotoperíodos de 12 e 8 horas de luz. Diferentemente do que foi observado neste estudo, NORTON et al. (1988) observaram que a luz vermelha incrementa o número de brotações em plantas ornamentais micropropagadas.

Com relação ao número médio de gemas por brotação, os tratamentos não apresentaram efeito significativo para os clones I.S. 5/18 e 5/23. Para o clone I.S. 5/14, a redução da intensidade luminosa resultou em um menor número de gemas por brotação (Figura 2), porém o mesmo tratamento, para o referido clone, proporcionou maior comprimento dos internós (Figura 3), característica esta desejável para o objetivo do trabalho. MULEO & MORINI (1990) observaram que, em *Actinidea deliciosa*, a qualidade da luz pode controlar a organogênese, sendo que particularmente a luz vermelha em altas intensidades resulta em regeneração mais precoce quando comparada com luz azul e branca.

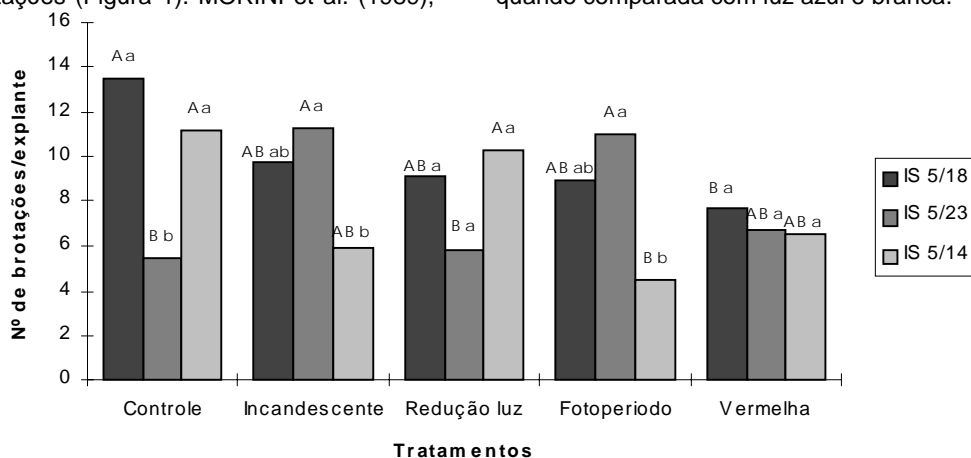


Figura 1 - Efeito dos diferentes tratamentos no número de brotações dos explantes da série I.S. 5/18, 5/23 e 5/14. *Letras maiúsculas representam diferença entre os tratamentos e letras minúsculas representam a diferença entre os clones (Teste de Duncan $\alpha=0,001$).

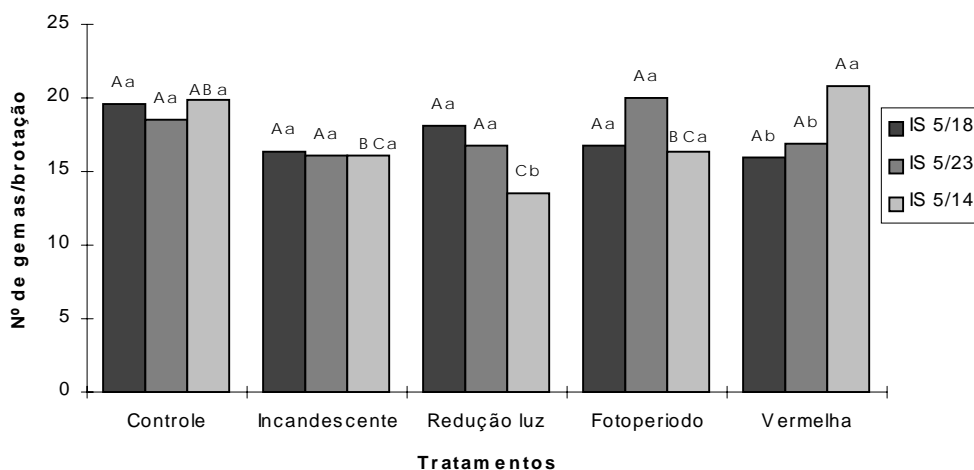


Figura 2 - Efeito dos diferentes tratamentos no número médio de gemas por brotação dos explantes da série I.S. 5/18, 5/23 e 5/14. *Letras maiúsculas representam a diferença entre os tratamentos e letras minúsculas representam a diferença entre os clones (Teste de Duncan, $\alpha=0,001$).

Tanto para a variável comprimento médio das brotações como para a variável comprimento médio dos internós, efeitos significativos dos tratamentos foram observados. Para o clone I.S. 5/18, em ambas as variáveis, o efeito da luz incandescente foi significativamente superior aos demais tratamentos. O clone I.S. 5/23, também em ambas variáveis, apresentou melhores resultados com os tratamentos de luz incandescente e de luz vermelha. Já para o clone I.S. 5/14, os melhores resultados foram obtidos com os tratamentos de redução de intensidade luminosa e com luz vermelha para a

variável comprimento das brotações. Segundo GRATTAPAGLIA & MACHADO (1998), a diminuição da intensidade luminosa reduz o comprimento das brotações em rosáceas. A variável comprimento médio dos internós, para o mesmo clone, teve incremento significativo com a redução da intensidade luminosa (Figuras 3 e 4). FARINA et al. (2001) observaram que o suplemento com luz incandescente resultou em aumento no comprimento dos internós do eixo principal e no comprimento dos eixos laterais de *Aster* cv. Butterfly.

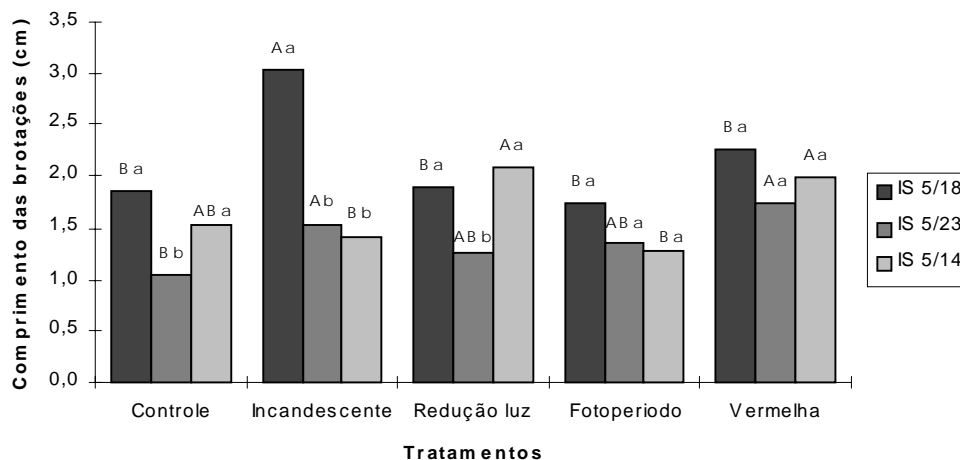


Figura 3 - Efeito dos diferentes tratamentos no comprimento médio das brotações (cm) dos explantes da série I.S. 5/18, 5/23 e 5/14. *Letras maiúsculas representam diferença entre os tratamentos e letras minúsculas representam a diferença entre os clones (Teste de Duncan ($\alpha=0,001$)).

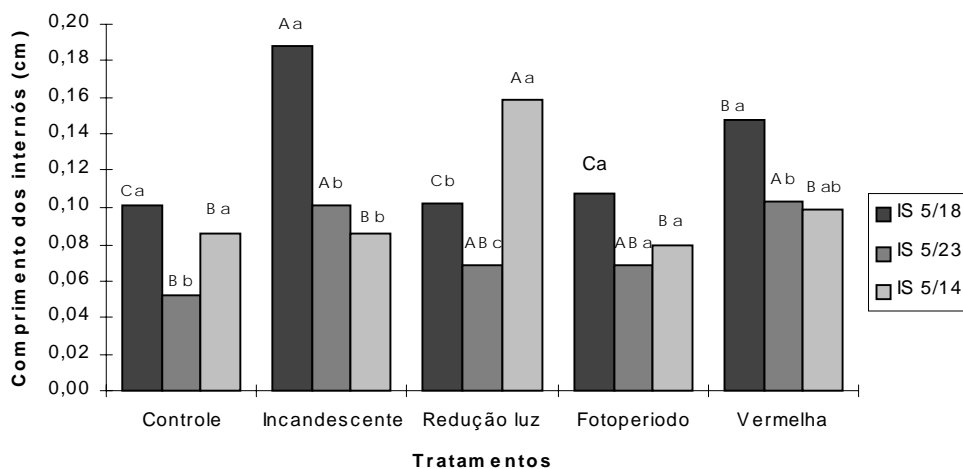


Figura 4 - Efeito dos diferentes tratamentos no comprimento médio dos internós (cm) dos explantes da série I.S. 5/18, 5/23 e 5/14. *Letras maiúsculas representam diferença entre os tratamentos e letras minúsculas representam a diferença entre os clones (Teste de Duncan, $\alpha=0,001$).

Para a variável grau de vitescência, o tratamento de redução da intensidade luminosa aumentou significativamente a vitescência dos explantes para todos os clones testados. Os melhores resultados na redução da vitescência dos explantes foram alcançados com o tratamento de luz incandescente, provavelmente devido ao aumento da temperatura interna do

frasco reduzindo deste modo a umidade relativa no seu interior. (Figura 5). De acordo com GRATTAPAGLIA & MACHADO (1998), o excesso de vapor de água na atmosfera do frasco é também um dos responsáveis pela vitrificação.

Quanto à intensidade da coloração verde das brotações observou-se que houve uma resposta diferenciada aos

tratamentos de luz para cada clone. Para o clone I.S. 5/23, a redução da intensidade luminosa resultou em incremento da coloração verde das brotações. Para o clone I. S. 5/18, o tratamento de fotoperíodo de 16/8h resultou em maior coloração verde das brotações e para o I. S. 5/14 o controle resultou em melhor coloração (Figura 06). Pelo fato da luz

incandescente possuir uma maior quantidade de luz no comprimento de onda vermelho e vermelho longo induziu nos explantes expostos a este tratamento, uma menor intensidade de coloração verde, devido à manifestação mais intensa do fitocromo B em relação ao fitocromo A dos explantes (ALPI et al., 2000).

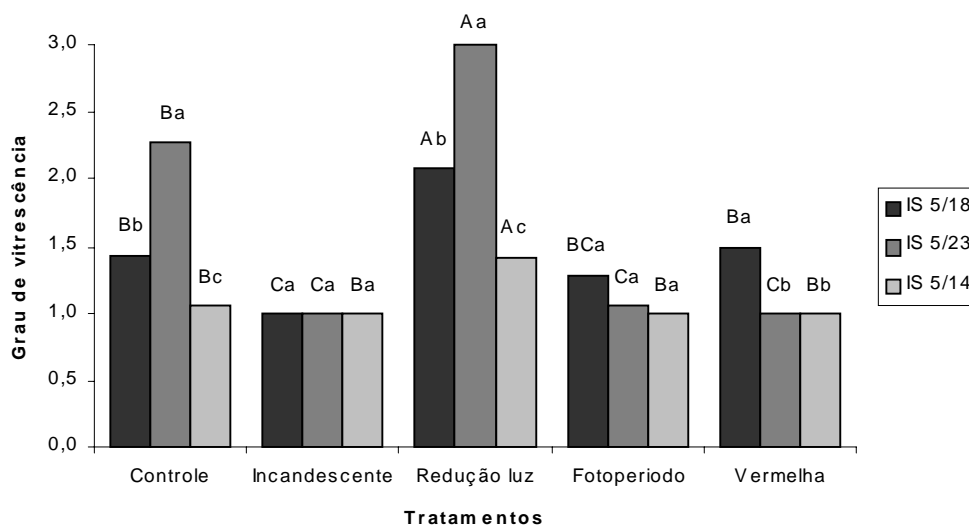


Figura 5 - Efeito dos diferentes tratamentos no grau de vitrescência dos explantes da série I.S. 5/18, 5/23 e 5/14. *Letras maiúsculas representam a diferença entre os tratamentos e letras minúsculas representam a diferença entre os clones (Duncan, $\alpha=0,001$).

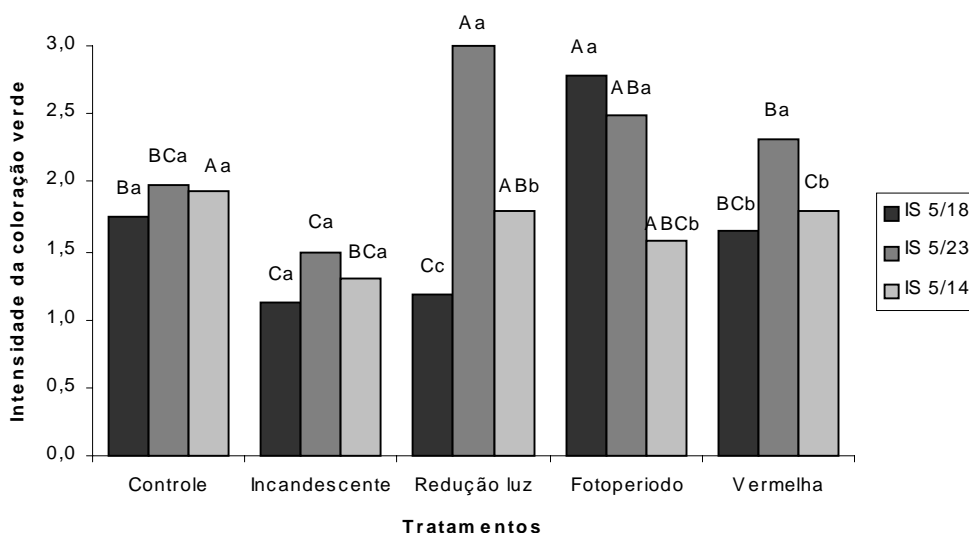


Figura 6 - Efeito dos diferentes tratamentos na intensidade da coloração verde dos explantes da série I.S. 5/18, 5/23 e 5/14. *Letras maiúsculas representam a diferença entre os tratamentos e letras minúsculas a diferença entre os clones (Duncan, $\alpha=0,001$).

CONCLUSÕES

O tratamento com luz incandescente aumentou o comprimento dos internós para o clone I.S. 5/18, reduziu a vitrescência e a intensidade de coloração verde para os três clones.

A luz vermelha reduziu a taxa proliferativa dos clones da série I. S.

ABSTRACT

The principal problem in the micropropagation of clones from the I.S. Series is the difficulty of internodes elongation. This series of clones was developed in the "Dipartimento de Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose G. Scaramuzzi" which belongs to the "Università Degli Studi di Pisa". The objective of the research was to improve the proliferate and elongation response of the clones explants from the series I.S. 5/18, 5/23 and 5/14 with the application of different light

quality, quantity and intensity. Thus, vegetative apices with at least 1 cm of length were used. These explants were submitted to 5 treatments: 1) control (fluorescent light Philips TLD 18W/33), 2) incandescent light, 3) reduction of light intensity (30% less than the control), 4) photoperiod of 16/8 hours and 5) red light. The experimental design used was completely randomized, with 15 replications per treatment. The results were submitted to a comparison of means through the Duncan Test. Sixty days after the onset of the experiment, the average number of developed budding, the length of the internodes, the degree of vitrification and the green color intensity of the explants were evaluated. The treatment using incandescent light has increased the length on the internodes to the clone I.S. 5/18, and also has reduced the vitrification and the intensity of green color on the 3 clones. The red light has reduced the proliferation rate of the clones from the I. S. series.

Key words: elongation, light intensity, red light, *in vitro* propagation, peach tree.

REFERÊNCIAS

- ALPI, A.; PUPILLO P.; RIGANO, C. **Fisiologia delle piante**. Napoli: EdiSES S.r.l., 3ª ed. 2002. 560p.
- ECONOMOU, A.S.; READ, P.E. Light treatments to improve efficiency of *in vitro* propagation systems. **HortScience**, n.22 v.5, p. 751-754.1987.
- FARINA, E.; DALLA GUDA C.; SCORDO, E. Effetti morfogenetici della illuminazione ad incandescenza su Aster cv. Butterfly. **Italus Hortus**, v.8, n.1., p. 39-42. 2001.
- GABRYSZEWSKA, E. Effects of ABA, Fluridone and light quality on growth and dormancy of tissue-cultured herbaceous peony shoots. **Acta horticultrae**, n. 560., p. 407-410. 2001.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A. C., CALDAS, L. S., BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de Plantas**. Brasília: Embrapa-SPI / Embrapa-CNPQ, 1998. 2v. 864p.
- HAMMERSCHLAG, F.A. Factors influencing *in vitro* multiplication and rooting of the plum rootstock Myrabolan (*Prunus cerasifera* Ehrh.). **Journal American Society Horticultural Science**, n. 107, p. 44-47. 1982.
- LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip cultura. **Proceedings International Plant Propagation Society**, v. 30, 1980. p. 421-427.
- LORETI, F.; MASSAI, R. Sirio: Nuovo portinnesto ibrido pesco x mandorlo. **L'Informatore Agrario**, n. 28, 1994. p. 47-49.
- LORETI, F.; MASSAI, R. Il contributo dell'Università di Pisa al miglioramento genetico dei portinnesti. **Rivista di Frutticoltura e Ortofloricoltura**, n. 4., p. 9-14. 1998.
- MORINI, S.; LORETI, F.; TRINCI, M. Effeto del fotoperiodo e della concentrazione di fitoregolatori nella propagazione *in vitro* sul susino portinnesto Mr.S. 2/5. **Atti...** "Convegno su Colture in vitro e micropropagazione in ortoflorofruitticoltura". Cesena: Società di Ortoflorofruitticoltura Italiana. 1989. p. 98-104.
- MULEO, R.; MORINI, S. Effect of light quality on regeneration from callus of *Actinidea deliciosa*. **Acta horticultrae**, n.280., p. 155-157. 1990.
- MURASHIGHE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth an bioassays with tobacco tissue coltures. **Plant Physiology**, n. 15., p. 473-497. 1962.
- NORTON, C. R.; NORTON, M.E.; MERRIGTON, T. et al. Light quality and light pipe in the micropropagation of woody ornamental plants. **Acta horticultrae**, v.2., n. 226, p. 413-416. 1988.