

DESINFESTAÇÃO DE EXPLANTES DE *PRUNUS* CV. Mr. S. 2/5 COM HIPOCLORITO DE SÓDIO E CÁLCIO

DECONTAMINATION OF *PRUNUS* CV. Mr. S. 2/5 EXPLANTS THROUGH SODIUM AND CALCIUM HYPOCHLORITE

CHAVES Anderson da C.¹; SCHUCH, Márcia W.²; Bianchi, Valmor J.³

- NOTA TÉCNICA -

RESUMO

Na produção de mudas de pessegueiro, a escolha do porta-enxerto é fundamental para o bom desenvolvimento e produtividade das plantas. Entre os porta-enxertos de maior interesse para a cultura, a cv. Mr. S. 2/5 tem sido recomendada quando se quer controlar o vigor das plantas no pomar. Buscando a produção *in vitro* deste porta-enxerto, esse trabalho teve como objetivo comparar o efeito do hipoclorito de sódio e cálcio, nas concentrações de 0,5%, 1%, 1,5% e 2%, na desinfestação de explantes de *Prunus* cv. Mr. S. 2/5. Foi utilizado o meio MS $\frac{3}{4}$ acrescido de 0,5 mg L⁻¹ de ácido ascórbico, 30 g L⁻¹ de sacarose e 100 mg L⁻¹ de mio-inositol, pH ajustado para 5,8, ágar na concentração de 6 g L⁻¹. Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio com 10 ml de meio de cultura. Observou-se que hipoclorito de sódio proporcionou os menores percentuais de contaminação total (3,75%), maiores percentagens de sobrevivência (96,25%) e estabelecimento *in vitro* (67,25%).

Palavras-chave: Micropropagação, porta-enxerto, assepsia, *Prunus* spp.

Atualmente a área plantada com pessegueiro no Brasil é de aproximadamente 30.000 ha, dos quais, 19.000 (62%) estão localizadas no estado do Rio Grande do Sul (MADAIL et al., 2000). Somente na região de Pelotas, a área cultivada com essa frutífera é de aproximadamente 5.000 ha, sendo uma das principais fontes de renda para muitos produtores rurais da Região. No Sul do Brasil, a produção de mudas de *Prunus* spp. é feita pela enxertia sobre porta-enxertos oriundos de caroços da indústria conserveira, o qual tem como inconveniente a falta de controle genético-sanitário, podendo induzir a desuniformidade das plantas enxertadas. Entre os porta-enxertos para pessegueiro, a cv. Mr. S. 2/5 é recomendada quando se quer controlar o vigor das plantas no pomar. O cultivo *in vitro* é um método viável para propagação de diversas espécies frutíferas, no entanto, um dos maiores entraves no estabelecimento *in vitro* de espécies lenhosas, está na dificuldade de obter tecidos livres de contaminação por fungos e bactérias (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998). O uso de diferentes agentes germicidas é fundamental para a redução da contaminação dos explantes durante o estabelecimento *in vitro*. Além disso, as concentrações das soluções desinfestantes e a combinação dos princípios ativos podem variar muito em função da sensibilidade do tecido a ser desinfestado (GRATTAPAGLIA

& MACHADO, 1998). Neste sentido objetivou-se com este trabalho o estabelecimento *in vitro* do porta-enxerto cv. Mr. S. 2/5, testando diferentes tipos e concentrações de agentes germicidas.

O Experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Células e Tecidos de Plantas, Departamento de Botânica do Instituto de Biologia, da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS. Ramos de aproximadamente 15 cm do porta-enxerto Mr. S. 2/5 de 1 ano de idade e cultivadas em telado, foram coletados em 26/04/02, e colocados em frascos forrados com papel alumínio, levados para o laboratório, onde após três lavagens em água corrente realizou-se a desinfestação com álcool etílico a 70% por 10 segundos seguido pela imersão em solução de hipoclorito de sódio ou cálcio (concentrações de 0,5%; 1,0%; 1,5% e 2%), adicionada de uma gota de Tween 20, pelo período de tempo de 20 minutos. Utilizou-se o meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), reduzido em 25% dos sais do meio inteiro e acrescido de 0,5 mg L⁻¹ de ácido ascórbico, 30 g L⁻¹ de sacarose e 100 mg L⁻¹ de mio-inositol, ajustado para pH 5,8, antes da adição de 6 g L⁻¹ de ágar. Os segmentos nodais com 1 cm de comprimento, foram colocados em tubos de ensaio com 10 mL de meio de cultura. Os explantes foram mantidos no escuro por 7 dias, a 25 ± 2°C, e, posteriormente transferidos para fotoperíodo de 16 horas, radiação de 25 μ moles m⁻² s⁻¹ e temperatura de 25 ± 2°C. Aos 35 dias de cultivo, avaliou-se a percentagem de contaminação total, fúngica e bacteriana, de sobrevivência e estabelecimento *in vitro*. A sobrevivência foi indicada pela coloração verde do explante e, o estabelecimento *in vitro* foi determinado pelo desenvolvimento dos primórdios foliares no explante. Utilizou-se o delineamento experimental em blocos casualizados, com 4 repetições por tratamento. Cada repetição constituiu-se de 5 tubos com um explante. Os dados foram transformados para arco seno da percentagem. Realizou-se à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Duncan ($\alpha=5\%$), para o fator tipo de solução, e regressão polinomial para o fator concentração da solução, através do uso do programa SANEST (ZONTA & MACHADO, 1984).

Os explantes desinfestados com solução de hipoclorito de sódio apresentaram os menores percentuais de contaminação (3,75%), estando em concordância com os resultados obtidos por KBATTAK et al. (1990), que

¹ Engº Agrº, Aluno do PPGA, Área de Concentração em Fruticultura de Clima Temperado, FAEM/UFPel, Campus Universitário – C. P. 354, CEP 96.010-900. Pelotas, RS. E-mail: chaves.ac@bol.com.br.

² Engª Agrª, Drª, Prof. Adjunta do Departamento de Fitotecnia, FAEM/UFPel. Campus Universitário – C. P. 354, CEP 96.010-900. Pelotas, RS.

³ Engº Agrº, Dr., Bolsista PRODOC-CAPES do PPGA, Área de Concentração em Fruticultura de Clima Temperado, FAEM/UFPel, Pelotas – RS.

(Recebido para Publicação em 22/05/2003, Aprovado em 08/10/2003)

comparando três tipos de desinfestantes, também obtiveram os melhores resultados de assepsia utilizando hipoclorito de sódio. A contaminação por bactérias foi maior do que por fungos (Tabela 1). Os valores foram baixos se comparados com os resultados de RODRIGUES et al. (1999), que obtiveram taxas de contaminação de 95,83%, 72,92% e 68,72% nas cvs. Capdeboscq, Aldrighi e Okinawa, respectivamente. Neste experimento a contaminação total registrada foi baixa, a qual pode ser atribuída a condição fitossanitária das plantas matrizes (mantidas em telado), pois segundo GRATTAPAGLIA & MACHADO (1998), o estado fitossanitário da planta é importante e irá determinar a facilidade em descontaminar o explante durante o isolamento.

Tabela 1 - Percentagem de contaminação fúngica, bacteriana, total, sobrevivência e estabelecimento de segmentos nodais de *Prunus* cv. Mr. S. 2/5, utilizando hipoclorito de sódio e cálcio.

Fatores	Hipoclorito de sódio	Hipoclorito de cálcio
Contaminação fúngica	12,50a	1,25b
Contaminação bacteriana	26,25a	2,50b
Contaminação total	38,75a	3,75b
Sobrevivência	96,25a	61,25b
Estabelecimento	67,25a	53,75b

Valores nas linhas seguidas por letras distintas, em função do tipo de solução, diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5%.

Segmentos nodais tratados com hipoclorito de sódio apresentaram alto percentual de sobrevivência (96,25%), diferindo estatisticamente dos tratados com hipoclorito de cálcio (61,25%). Utilizando hipoclorito de sódio 0,5%, durante 20 minutos, FOUAD et al. (1995) também obtiveram alto percentual de sobrevivência, quando comparado com hipoclorito de cálcio. O tratamento com hipoclorito de sódio permitiu obter valores superiores (67,25%) de estabelecimento de explantes, porém não diferiu estatisticamente do tratamento com hipoclorito de cálcio (53,25%) (Tabela 1).

De acordo com estes resultados, concluiu-se que a solução de hipoclorito de sódio é mais eficiente na desinfestação de segmentos nodais e não diferindo entre as concentrações utilizadas, permitindo ainda obter os maiores percentuais de sobrevivência e de estabelecimento *in vitro* do porta-enxerto cv. Mr. S. 2/5.

ABSTRACT

On the production of peach plant the selection of rootstocks is very important for good plants development and productivity. Among the rootstocks for this species the cv. Mr. S. 2/5 has been recommended to control orchard plant vigour. Looking for the *in vitro* production of this rootstock, the present paper aimed to compare the effect of sodium and calcium hypochlorite used in the concentrations of 0.5%, 1%, 1.5% and 2%, in the descontamination of *Prunus* explants, Cv. Mr. S. 2/5. MS medium $\frac{3}{4}$ was used, supplemented with 0.5 mg L^{-1} of ascorbic acid, 30 g L^{-1} of sucrose and 100 mg L^{-1} of myo-inositol, pH adjusted for 5.8, plus 6 g L^{-1} of agar. The explants were inoculated in flasks with 10 ml of culture medium. It was found that sodium hypochlorite provided the lowest percentages of total contamination (3.75%), the highest survival percentages (96.25%) and *in vitro* establishment (67.25%).

Key words: Micropropagation, rootstocks, asepsis, *Prunus* spp.

REFERÊNCIAS

- FOUAD, M.M.; GOMAA, A.H.; ABD EL ZAHER, M.H.; et al. Factors influencing rooting of peach shoots cultured *in vitro*. *Acta Horticulturae*, Cairo, n. 409, p.197-202, 1995.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L. S. **Cultura de Tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA CNPH, p.183-260, 1998.
- KBATTAK, M. S.; MALIK, M. N.; KHAN, M. A. Effect of surface sterilization agents on *in vitro* culture of guava (*Psidium guajava* L.) cv. Sufeda tissue. *Sarhad Journal of Agriculture*, Tarnad, v. 6, n. 2, p. 151-154, 1990.
- MADAIL, J.C.M.; RASEIRA, M.C.B.; HERTER, F.G. et al. Principais pólos de produção de pêssego, maçã, ameixa e nectarina no Brasil. Embrapa Clima Temperado. **Circular interna**. 10p. 2000.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised médium for rapid growth and biossay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Kobenhan, v. 15, p.473-497, 1962.
- RODRIGUES, A.C.; FACHINELLO, J.C. ESTRELOW, E.; et al. Estabelecimento *in vitro* de porta-enxertos de *Prunus* sp. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 21, n.2, p. 229-231, 1999.
- ZONTA, E.P., MACHADO, A.A. SANEST – **Sistema de análise estatística para microcomputadores**. Registrado na SEI – Secretaria Especial de Informática, sob n. 066,060, Categoria A. Pelotas, 1984.