

**INFLUENCIA DO pH E DA COMPOSIÇÃO SALINA DO MEIO NA
MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DO PORTA-ENXERTO Mr.S. 2/5
(*Prunus Cerasífera*)**

GALLO, Cibele Merched¹; RITTERBUSCH, Cristina Weiser¹; FEIJÓ, Anderson da Rosa²; BIANCHI, Valmor João³; RADMANN, Elizete Beatriz⁴

¹. Alunas do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Pelotas Caixa Postal 354 - 96010-900. Pelotas-RS Brasil. *cibele.gallo@hotmail.com*

². Aluno de graduação Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS Brasil.

³. Prof. da Universidade Federal de Pelotas, Caixa Postal 354 - 96010-900. Pelotas-RS Brasil.

⁴. Pós-doutoranda PNP/CAPEs, Departamento de Botânica/UFPel, *eradmanna@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

A propagação *in vitro* tem permitido propagar espécies de difícil multiplicação, com obtenção de material de alta qualidade genética e sanitária (HAMMERSCHLAG, 1982; PÉREZ –TORNERO; BURGOS, 2000). Para o gênero *Prunus*, tem se verificado grande progresso nas técnicas de cultura *in vitro*, com o uso de novos genótipos associado ao avanço técnico-científico nos métodos de propagação *in vitro* (PÉREZ-TORNERO ET AL., 2000; SILVEIRA ET AL., 2001; ROGALSKI, 2002; SILVA ET AL., 2003). Entretanto, na fase de multiplicação, vários fatores podem afetar esta técnica, principalmente a concentração de sais e dos reguladores de crescimento. Outros componentes do meio de cultura (fonte e concentração de carboidrato), bem como o pH, podem influenciar o cultivo, porém poucos são os trabalhos conduzidos com o gênero *Prunus* (Rosaceae), estudando tais efeitos.

O meio MS (MURASHIGE, SKOOG, 1962) é o mais utilizado na fase de multiplicação em diversas espécies (GRATTAPAGLIA, MACHADO, 1998). Porém, para o gênero *Prunus*, diluições deste meio ou mesmo outras formulações consideradas mais fracas, como WPM (LLOYD, MCCOWN, 1980), QL (QUOIRIN; LEPROIVE, 1977) e Villegas (VILLEGAS et al., 1992), podem ser usados de acordo com a espécie ou cultivar, conforme observado nos trabalhos de SILVEIRA et al. (2001), COUTO (2004) e ROCHA, (2006).

Neste contexto, torna-se necessário o desenvolvimento e aperfeiçoamento de protocolos para propagação clonal de *Prunus* sp. em escala comercial. Sendo assim, neste trabalho se deu enfoque à multiplicação *in vitro* do porta-enxerto Mr.s. 2/5, objetivando avaliar a influencia do pH e composição salina em meios de cultura, pois este porta-enxerto tem potencial de uso devido apresentar resistência aos nematóides do gênero *Meloidogyne* (FACHINELLO et al., 2000); BECKMAN; CUMMINS, 1991; FINARDI, 1998; LORETI; MASSAI, 1995), praga de importância econômica no RS.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal utilizado no experimento foi proveniente de cultivo prévio em meio de cultura MS com 0,5 mg L⁻¹ de BAP, 0,01 mg L⁻¹ de AIB e pH 5,2.

Na condução do experimento foram testadas quatro composições de meios de cultura (QL, WPM, SH, MS), com dois pH (5,8 e 5,2). Todos os meios de cultura foram acrescidos de 0,5 mg L⁻¹ de BAP e 0,01 mg L⁻¹ de AIB, 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de mio-inositol e 7 g L⁻¹ de ágar. O pH dos meios foi ajustado antes da autoclavagem, por 20 minutos a 121 °C.

Após a inoculação dos explantes nos meios de cultura, os frascos foram transferidos para sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 16 horas de luz e densidade de fluxo de fótons de 48 μmol m⁻² s⁻¹, permanecendo neste local por 30 dias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com fatorial de 4x2, totalizando oito tratamentos, com quatro repetições, sendo cada repetição representada por um frasco contendo cinco explantes, tendo como variáveis: número e comprimento de brotos. Realizou-se análise de variância dos dados e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey com 5% de probabilidade de erro, utilizando o software WinStat 2.0 (MACHADO; CONCEIÇÃO, 2003).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo a análise de variância, observou-se diferença significativa entre os tratamentos apenas para a variável número de brotos, onde foi verificada interação entre os fatores.

Com relação aos meios de cultura, explantes cultivados em meio MS apresentaram melhores resultados com relação ao número de brotos, sendo o maior número obtido no meio MS com pH 5,2 (6,7), diferindo dos demais tratamentos com pH 5,8 (Tabela 1). Apesar de não ocorrer diferença significativa entre os meios quando utilizado pH 5,8, numericamente o número de brotos obtidos no meio MS foi maior em comparação aos demais meios, em aproximadamente 40% (Tabela 1).

Tabela 1 - Número médio de brotos por explante do porta-enxerto cv. Mr.S. 2/5, cultivados por 30 dias em diferentes meios de cultura em dois pH

Meio de cultura	pH 5,2	pH 5,8
MS	6,70 A a	4,50 A b*
SH	4,35 B a	2,80 A b
WPM	3,15 B a	2,85 A a
QL	3,06 B a	2,80 A a

CV(%) = 23,33

*Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na coluna, diferem entre si para o fator meio de cultura, e médias seguidas por letras minúsculas distintas na linha, diferem entre si para o fator pH, pelo teste de Tukey a 5%.

Na comparação de meios com diferentes pH, os melhores resultados foram observados com pH 5,2 em todos os meios testados, sendo os maiores valores encontrados no meio MS (Tabela 1 e Figura 1). Embora não houve diferença significativa entre os níveis de pH nos meios WPM e QL, os valores obtidos com pH 5,2, são superiores em relação ao pH 5,8 (Tabela 1).



Figura 1 - Brotações do porta-enxerto Mr. S. 2/5 após 30 dias de cultivo em meio MS com pH 5,8 (esquerda) e pH 5,2 (direita).

Embora explantes de plantas lenhosas apresentam melhor desenvolvimento em meios de cultura com sais reduzidos, como WPM e QL (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998), algumas espécies e/ou cultivares podem apresentar melhores respostas em meios com maior concentração de sais. Portanto, esta diferença pode justificar a maior formação do número de brotos por explante com o porta-enxerto Mr.S. 2/5 no meio MS.

Outros trabalhos conduzidos com o gênero *Prunus* mostram estas diferenças, ou seja, algumas cultivares apresentaram melhor desempenho em meio de cultura mais concentrado, como CHAVES (2003) trabalhando com cv Mr. S. 1/8, e outros em meios com menor concentração salina, como SILVEIRA (2001) com as cultivares Capdeboscq e GF677, e COUTO (2003), com o porta-enxerto 'Tsukuba 1'.

As ameixeiras são cultivadas em solo com pH em torno de 6,0 (CASTRO; PEREIRA, 2008), no entanto, algumas cultivares podem se desenvolver bem em pH mais ácido, podendo esta característica estar associada aos melhores resultados obtidos em meios de cultura com pH 5,2.

Com relação ao comprimento de brotos, não houve diferença significativa entre os tratamentos, obtendo como média geral, 0,45 cm (dados não apresentados). Portanto, acredita-se que para o período de cultivo utilizado (30 dias) os fatores meio de cultura e pH, são determinantes apenas para a variável número de brotos, pois estes podem estar envolvidos na sua formação, porém sem influencia significativa no comprimento destes.

Considerando o baixo comprimento dos brotos, sugere-se o estudo de outros fatores visando melhorar esta variável, pois o tamanho das brotações é determinante para as fases de enraizamento e aclimatação.

4. CONCLUSÕES

Nas condições em que foi conduzido o experimento, pode-se concluir que o meio MS com pH 5,2 é o que promove melhor multiplicação *in vitro* da cultivar Mr.S. 2/5.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BECKMAN, T.; CUMMINS, J. N. Rootstocks for peaches. **HortScience**, Alexandria, v. 26, n. 8, p. 974-975, ago. 1991.

- CASTRO, L.A.S; PEREIRA J.F.A; Produção de mudas de ameixeira cv. Stanley (*Prunus domestica*) visando o processo de certificação. **Sistemas de produção** **13**, Embrapa, Pelotas, dez. 2008.
- COUTO, M.; OLIVEIRA, R.P.; FORTES, G.R.L. de. Multiplicação *in vitro* dos porta-enxertos de *Prunus* sp. cv. Barrier e Cadaman. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.1, p.5-7, 2004.
- FACHINELLO, J. C; LORETI, F. Porta-enxertos para frutas de caroço. I- Novas opções com materiais de origem clonal; sementes e híbridos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 3, p. 483-486,dez., 2000.
- FINARDI, N. L. Métodos de propagação e descrição de porta-enxertos. In: MEDEIROS, C. A. B.; RASEIRA, M. do C. B. (Ed.). **A cultura do pessegueiro**. Brasília: Embrapa-SPI; Pelotas: Embrapa-CPACT, 1998. p. 100-129.
- 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, p.183-260. 1998.
- HAMMERSCHAG, F. Factors influencing *in vitro* multiplication and rooting of the plum rootstock myrabolan *Prunus cerasifera* Ehrh. **Journal of the Plant Science**, Alexandria, v.107, n.1, p.44-47, 1982.
- LORETI, F.; MASSAI, R. Il Contributo dell'Università di Pisa al miglioramento genetico dei portinnesti. **Rivista di Frutticoltura e di ortofloricoltura**, Bologna, n. 4, p. 9-13, apr., 1998.
- MACHADO, A.A.; CONCEIÇÃO, A.R. **WinStat - sistema de análise estatística para Windows. Versão Beta**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2005. (Software)
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tabaco tissue culture. **Physiol. Plant.**, 15: 473-97. 1962.
- PÉREZ-TORNERO, O.; BURGOS, L. Different media requirements for micropropagation of apricot cultivars. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.63, p.133-141, 2000.
- ROCHA, Paulo Sérgio Gomes da. **Propagação *in vitro* de porta-enxertos do gênero *Prunus* spp.** 2006, 101f. Tese (Doutorado em Fruticultura de Clima Temperado) Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- ROGALSKI, M. **Propagação *in vitro* de porta-enxertos de *Prunus*: cultura de embriões, estabelecimento, multiplicação, enraizamento e aclimatização**, 2002. 92f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.
- SCHENCK, R. U.; HILDEBRANDT, A. C. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 50, p.199-204, 1972.
- SILVA, A.L.; ROGALSKI, M.; MORAES, L. K. A.; FESLIBINO, C.; CRESTANI L.; GUERRA, M. P. **Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de porta-enxertos de *Prunus***. Rev. Bras. de Fruticultura, Jaboticabal, v. 25, n.2, p.297-300, 2003.
- SILVEIRA, C.A.P; FORTES, G.R.de L.; FACHINELLO, J.C.; RODRIGUES, A.C.; CITADIN, I.; QUEZADA, A.C.; SILSA, 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.