

REVISTA CERES

Março e Abril de 1996

VOL. XLIII | Nº 246

Viçosa - Minas Gerais

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE *Pyrus calleryana* L.: INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E SACAROSE¹

Moacir Pasqual²
Regina Célia Forni²
Rosana Gazola²
Arie Fitzgerald Blank²

1. INTRODUÇÃO

A obtenção de porta-enxerto constitui um dos principais entraves à expansão da cultura da pereira (*Pyrus calleryana* L.), no Brasil. O porta-enxerto *P. calleryana* apresenta bom comportamento nas condições climáticas brasileiras e afinidade com os principais cultivares-copa de pereira. Sua propagação tem sido feita pela mergulhia, do tipo cepa, com rendimento bastante baixo.

A propagação *in vitro* tem sido utilizada com sucesso em várias espécies economicamente importantes. De acordo com CALDWELL (3), embora alguns métodos tradicionais sejam comumente usados, as técnicas da cultura *in vitro* podem eventualmente se tornar o método preferido de propagação.

A sacarose é o carboidrato mais utilizado nos trabalhos de propagação pela cultura de células e de tecidos. Segundo SNIR e EREZ (9), trabalhando com macieira, a concentração normalmente utilizada é de

¹ Aceito para publicação em 03.10.1994. Apoio Financeiro da Fapemig.

² Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras. Cx. Postal 37. 37200-000 Lavras, MG.

2-3%, da mesma forma que para a maioria das culturas a ausência de sacarose provoca, em pouco tempo, a morte dos explantes (10). LANE (6) afirma que concentrações muito elevadas também podem ser prejudiciais.

CALDAS *et alii* (4) afirmam que o crescimento da maioria das culturas é sustentado pela fonte de carboidratos adicionada ao meio. Os carboidratos fornecem energia metabólica e esqueletos de carbono para a biossíntese de polissacarídeos estruturais, como celulose, aminoácidos e proteínas, e todos os compostos orgânicos necessários para o crescimento das células.

FRIDBORG (5) mostrou que culturas de cebola (*Allium cepa*) crescem bem em meio contendo 4% de sacarose. Bons resultados no enraizamento de macieira têm sido obtidos com 10 a 15 g/l de sacarose, por BARBOSA *et alii* (1); 30 g/l para o porta-enxerto 'M-26', por OCHATT e CASO (8); e 20 g/l para diversos porta-enxertos, por SNIR e EREZ (9).

A temperatura exerce grande influência sobre a propagação *in vitro*, no entanto, os resultados são contraditórios (7). A faixa ótima para a maioria das espécies encontra-se entre 20 e 27°C. ZIMMERMAN (11), testando o efeito de várias temperaturas, obteve enraizamento ótimo de brotos de macieira 'Delicious' *in vitro* a 30°C, enquanto a amora-preta (*Rubus idaeus* L.) foi propagada por BROOME e ZIMMERMAN (2) a temperaturas de 24 e 29°C. Brotos oriundos de "seedlings" de macieira apresentam melhor comportamento *in vitro* em temperaturas altas, 28°C (6).

Objetivou-se, com o presente trabalho, verificar o efeito de diferentes concentrações de sacarose e temperaturas sobre a propagação *in vitro* do porta-enxerto de pera *P. calleryana*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os brotos do porta-enxerto *Pyrus calleryana* L., oriundos de plântulas mantidas *in vitro*, com aproximadamente 2 cm de comprimento, foram inoculados de maneira asséptica, nos meios de cultura, em câmara de fluxo laminar.

O meio de cultura se constituiu dos sais de "MS", acrescido de sacarose a 0, 15, 30, 60 e 120 g/l. O agente solidificante usado foi o ágar, 7 g/l e pH aferido em 5,7 antes da autoclavagem. As culturas foram distribuídas em câmaras para B.O.D. com temperaturas de 21, 24, 27 e 30°C e fotoperíodo de 16/8 h de luz/escuro e com intensidade luminosa de, aproximadamente, 2.000 lux. O delineamento experimental usado foi o

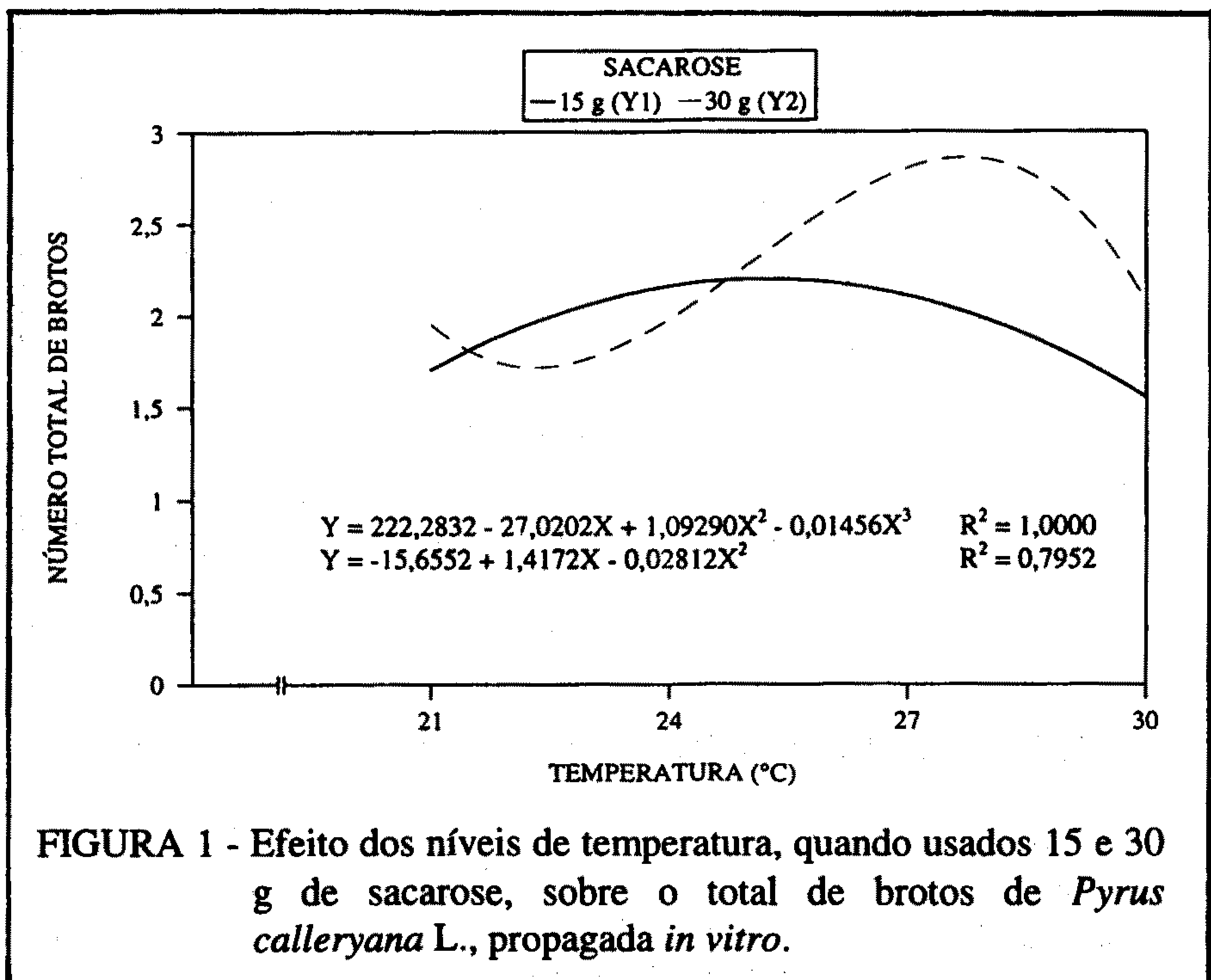
DIC em esquema fatorial com quatro repetições e quatro tubos por parcela.

A avaliação foi efetuada aos 30 dias após a inoculação, registrando-se o número total de brotos e o número de brotos maiores que 1 cm. Para efeito de análises, os dados sofreram transformações para $\sqrt{x + 1}$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Efeitos da Temperatura Dentro dos Níveis de Sacarose

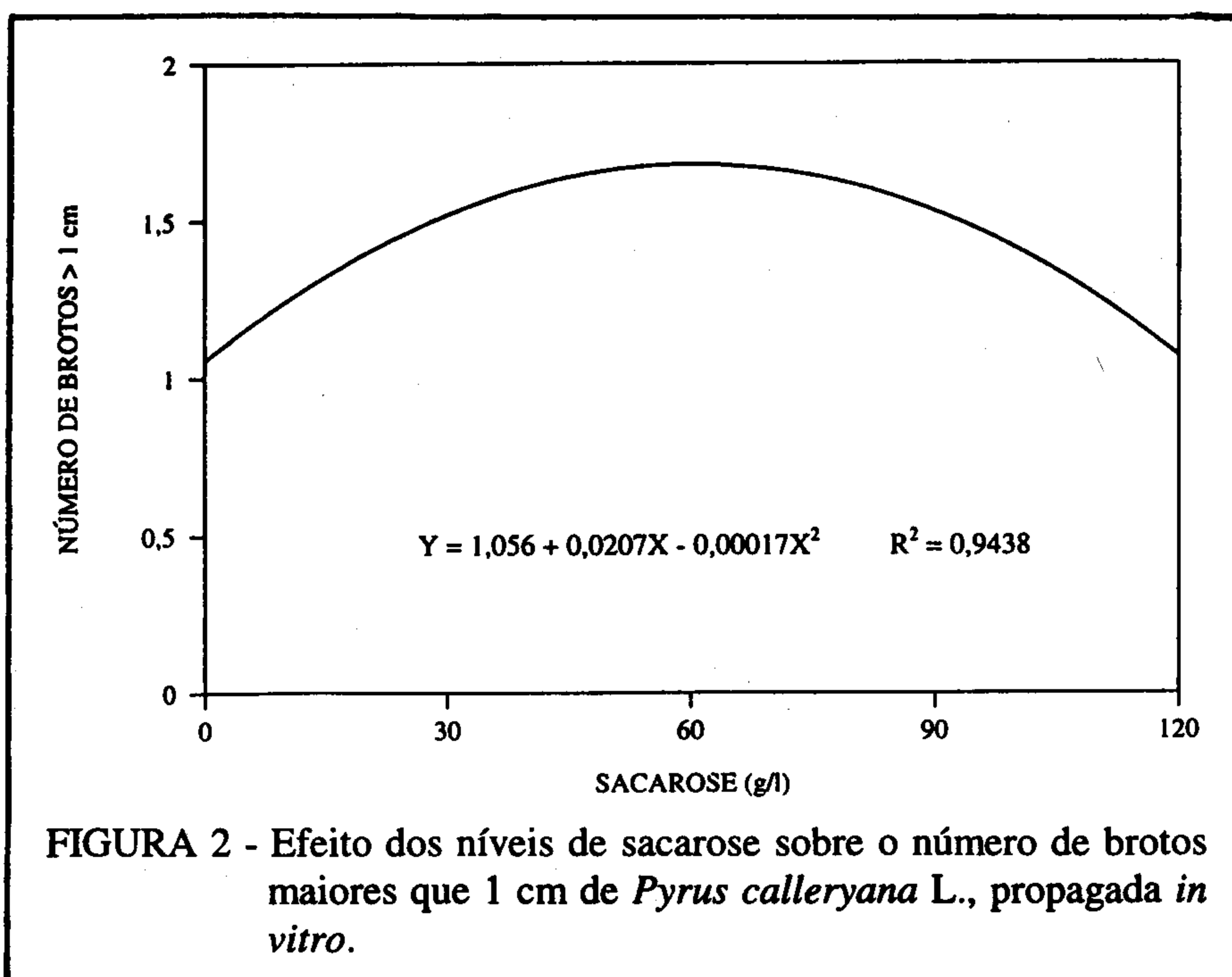
A Figura 1 mostra que, usando 15 g/l de sacarose no meio, a temperatura de 25,2°C produziu o maior número de brotos (3,84 por explante). Com 30 g/l de sacarose, quando a temperatura foi elevada de 21 para 24°C, houve incremento muito pequeno na produção de brotos, porém, quando a temperatura variou de 24 para 27°C a proliferação de brotos foi grandemente beneficiada, voltando a diminuir em 30°C.



Desenvolvendo a equação, observa-se que a temperatura ideal foi de 27,7°C, produzindo 7,18 brotos por explante. Estes resultados concordam, em parte, com LANE (6), que encontrou a temperatura ideal de 28°C para a macieira, e confirmam a expectativa de que a temperatura de 27°C daria melhor resposta que a de 30°C no crescimento de *P. calleryana in vitro*.

No uso de concentrações maiores de sacarose, 60 g/l ou 120 g/l, as temperaturas não mais influenciaram significativamente a produção total de brotos. Isso se deve, possivelmente, à menor taxa de brotação provocada pelo aumento dos níveis de sacarose, conforme LANE (6), que afirma que concentrações muito elevadas podem ser prejudiciais.

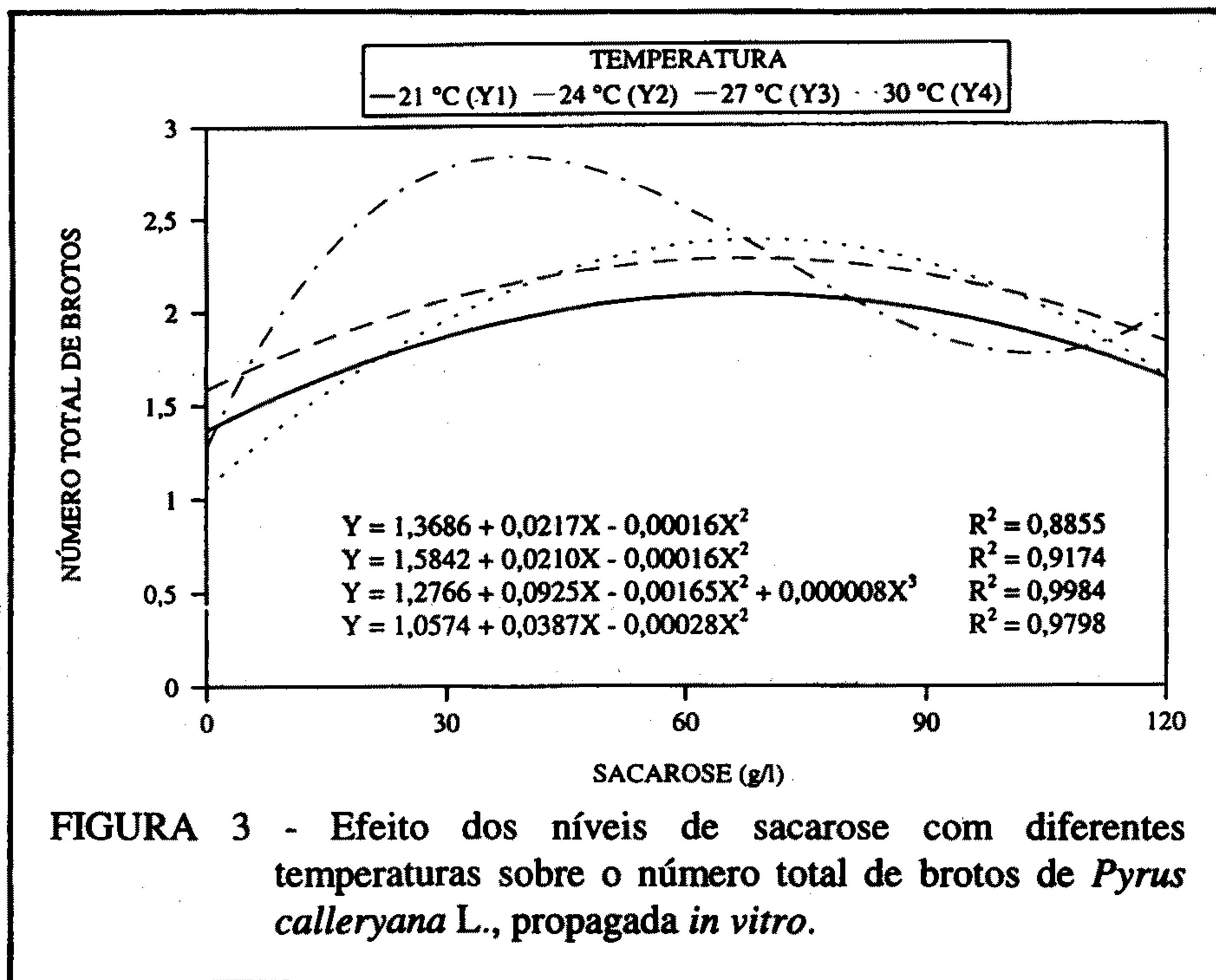
Estudando-se os diferentes níveis de sacarose para a produção de brotos maiores que 1 cm, observa-se pela Figura 2 que a concentração de sacarose de 60,43 g/l foi a ideal, produzindo 1,82 broto por explante.



3.2. Efeitos da Sacarose Dentro das Diferentes Temperaturas

Estudando-se os níveis de sacarose nas diversas temperaturas, observa-se que a 21°C, pela derivação da equação, o uso de 66,96 g/l de sacarose produziu o maior número de brotos - 3,40 por explante (Figura 3). A 24°C, a concentração de 66,59 g/l foi a ideal para a proliferação de

brotos - 4,22 por explante. Com 30°C, na derivação da equação, obteve-se o nível de sacarose ideal de 68,75 g/l para a maior produção total de brotos - 4,70 por explante.

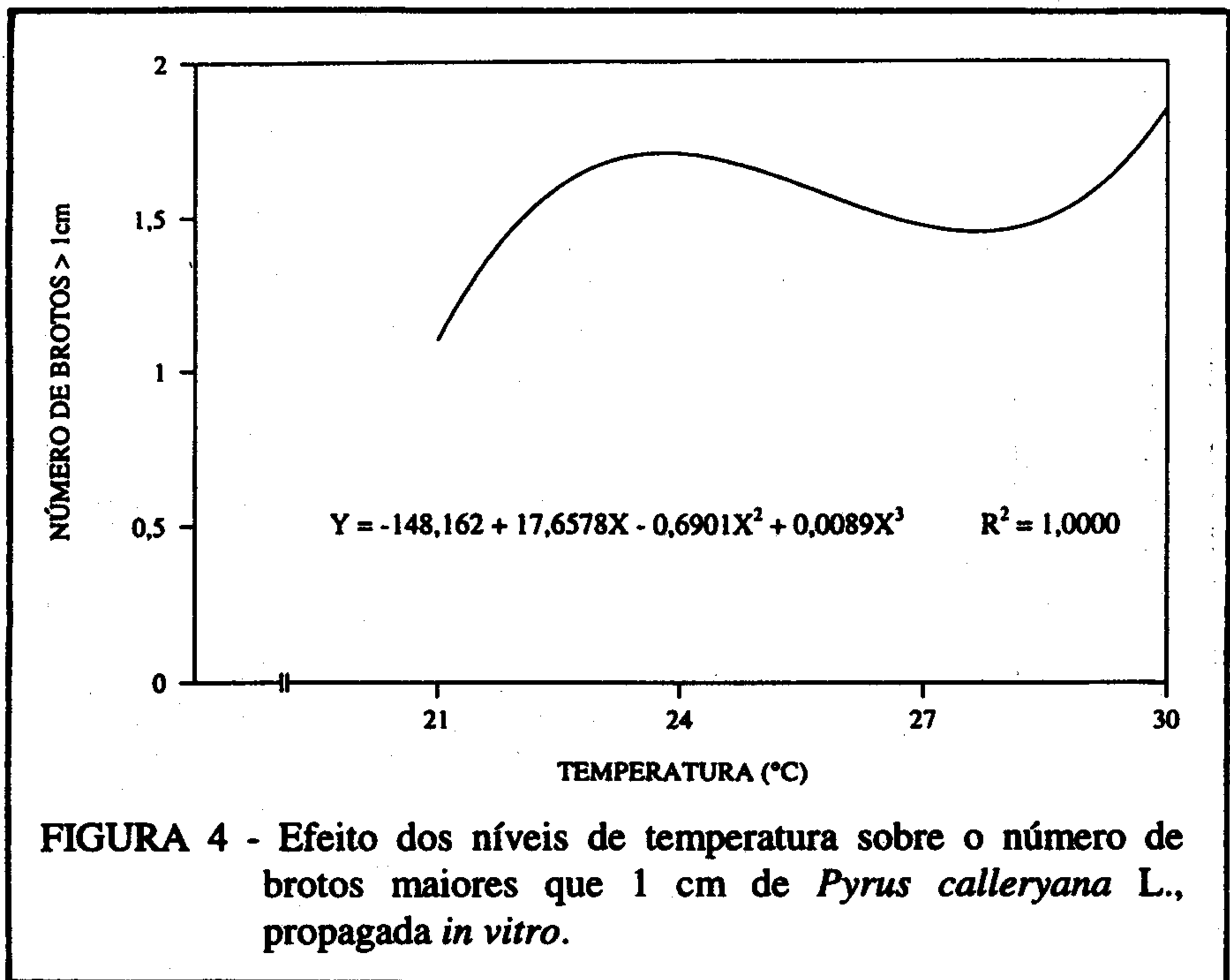


Para a temperatura de 27°C, houve aumento da proliferação de brotos na presença do nível mais baixo até a concentração de 38 g/l de sacarose, produzindo cerca de 7,02 brotos por explante. Em concentrações maiores, a taxa de multiplicação volta a diminuir, dentro do intervalo estudado, concordando com resultados de FRIDBORG (5), na micropropagação de cebola.

Com relação ao efeito da temperatura na produção de brotos com mais de 1 cm, observa-se (Figura 4) que a 21°C a pereira apresentou menor número de brotos, seguida da de 27°C. A 24°C houve elevação na proliferação de brotos, enquanto a 30°C encontrou-se a maior taxa de multiplicação, concordando com dados de ZIMMERMAN (11), obtidos com o enraizamento de brotos de macieira 'Delicious', e BROOME e ZIMMERMAN (2), com amora-preta (*R. idaeus*).

4. CONCLUSÕES

Para a proliferação de brotos com mais de 1 cm, a concentração de



sacarose ideal foi de 60,43 g/l e a temperatura ótima, 30°C; enquanto para a produção total de brotos, a associação ideal foi 38 g/l de sacarose quando se utilizou temperatura de 27°C; e 27,7°C de temperatura quando se utilizou o nível de 30 g/l de sacarose.

O nível de 120 g/l de sacarose prejudicou tanto a proliferação de brotos como a produção de brotos com mais de 1 cm. Temperaturas abaixo de 24°C influenciaram negativamente na produção de brotos.

5. RESUMO

Brotos com aproximadamente 2 cm de comprimento de *Pyrus calleryana* L. foram inoculados em meio "MS" acrescido de sacarose (0, 15, 30, 60 e 120 g/l). As culturas foram mantidas em estufas para B.O.D. com temperaturas de 21, 24, 27 e 30°C e fotoperíodo de 16/8 h de luz/escuro e com intensidade luminosa de, aproximadamente, 2.000 lux. Após 30 dias de crescimento, o experimento foi avaliado pelo número total de brotos e número de brotos maiores que 1 cm, surgidos por explante. Melhores resultados para número total de brotos e número de brotos maiores que 1 cm foram registrados em 27,7 e 30°C, respectivamente. O aumento da concentração de sacarose provocou

acrécimo no número total de brotos e no número de brotos maiores que 1 cm até 38 e 60,43 g/l, respectivamente.

6. SUMMARY

(INFLUENCE OF PHOTOPERIOD AND SUCROSE ON *IN VITRO* PROPAGATION OF *Pyrus calleryana* L.)

Shoots two centimeters in length of *Pyrus calleryana* L. were inoculated in "MS" medium supplemented by sucrose at 0, 15, 30, 60 e 120 g/l. The cultures were grown at 21, 24, 27 and 30°C, light/dark photoperiod of 16/8 hours and 2,000 lux light intensity. After 30 days of growth, the experiment was evaluated on the basis of total number of new shoots and number of shoots taller than 1 cm in length. The best results were registered in temperatures of 27.7 and 30°C. The increase in sucrose concentration induced the increase in total number of new shoots and number of shoots taller than 1 cm in length at 38 e 60.43 g/l of sucrose, respectively.

7. LITERATURA CITADA

1. BARBOSA, W.; DALL'ORTO, F.A.C.; OJIMA, M.; CAMPOS, S.A.F. & TOMBOLATO, A.F.C. Propagação vegetativa "in vitro" de cultivares de macieira. *Bragantia*, 45:143-154, 1986.
2. BROOME, O.C. & ZIMMERMAN, R.H. In vitro propagation of blackberry. *HortScience*, 13:151-153, 1978.
3. CADWELL, J.D. Blackberry propagation. *HortScience*, 13:13-15, 1978.
4. CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P. & FERREIRA, M.E. Meios Nutritivos. In: TORRES, A.C. & CALDAS, L.C. (ed.). *Técnicas e aplicações de cultura de tecidos de plantas*. Brasília, ABCTP/EMBRAPA-CNPq, 1990, p.37-70.
5. FRIDBORG, G. Growth and organogenesis in tissue cultures of *Allium cepa* var. Proliferum. *Physiologia Plantarum*, 25:436-440, 1971.
6. LANE, W.D. Regeneration of apple plants from shoots meristem tips. *Plant Science Letters*, 13:182-185, 1978.
7. LÊ, C.L. Influence of temperature on "in vitro" root, initiation and development of apple rootstock "M-26". *HortScience*, 20:451-452, 1985.
8. OCHATT, S.J. & CASO, O.M. In vitro meristem of "M-4" apple (*Malus pumila* Mill). I. Optimal nutrient medium. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2:39-48, 1983.
9. SNIR, I & EREZ, A. In vitro propagation of malling merton apple rootstocks. *HortScience*, 15:597-598, 1980.
10. SRISKANDARAJAN, S. & MULLINS, M.C. Micropropagation of Granny Smith apple: factors affecting root formation in vitro. *Journal of Horticultural Science*, 56:71-76, 1981.
11. ZIMMERMAN, R.H. Rooting apple cultivars in vitro: interactions among light, temperature, phloroglucinol and auxin. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 3:301-311, 1984.