

PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DO PORTA-ENXERTO DE VIDEIRA PAULSEN 1103 E CONTROLE DO CRESCIMENTO DE FUNGOS NO MEIO DE CULTURA.

Júlia Thomé¹; René A. Nadal e Gabriel Werner Malkiewicz²; Aledson Rosa Torres³; Liliane Martins de Brito⁴

RESUMO

A técnica da micropropagação através da cultura de tecidos é uma alternativa para a propagação em grande escala de diversas espécies, com alto grau de sanidade e com custo reduzido. O presente trabalho teve como objetivo o estabelecimento de um protocolo de regeneração *in vitro* de mudas de Paulsen 1103 (*Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris*), a partir de segmentos nodais de material juvenil, observando seu comportamento em meio de cultura com diferentes substâncias antifúngicas. Brotações apicais de mudas de dois anos de idade foram desinfestadas com água destilada, detergente Tween 20 e 1,5% de hipoclorito de sódio (NaOCl), durante 15 min, visando o estabelecimento de culturas assépticas. O experimento avaliou o comportamento *in vitro* do porta-enxerto de videira Paulsen 1103 em diferentes substâncias antifúngicas (0,003% de hipoclorito de sódio e 0,125% de Tebuconazole) em meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962), com a metade das concentrações de sais. Este trabalho foi conduzido no laboratório de Cultura de Pesquisa do IFC Câmpus Videira, com o apoio da empresa de propagação de plantas Vitro Planta, Videira, Santa Catarina. A metodologia de desinfestação dos segmentos nodais não conseguiu controlar a contaminação fúngica ao serem introduzidos no meio de cultura, sugerindo um controle anterior das matrizes com fungicidas. O tratamento com hipoclorito de sódio a 0,003% não controlou o desenvolvimento de fungos em 100% das amostras. O tratamento com Tebuconazole a 0,125% controlou o desenvolvimento de fungos nas repetições, porém findou intoxicando os explantes da videira. Ambos os resultados indicam a necessidade de estudos posteriores.

Palavras-chave: Videira, Micropropagação, Cultivo *in vitro*, *Vitis vinifera*, Paulsen 1103.

1 INTRODUÇÃO

A videira encontra-se entre as mais antigas plantas cultivadas pelo homem, que desde os primórdios de sua existência já se alimentava dos frutos desta planta. Através da evolução de seus conhecimentos, o homem aprendeu a fabricar produtos a partir da uva, como o vinho (MARTINS, 2006). Uvas de qualidade para a elaboração de vinhos são aquelas provenientes, sobretudo, de um vinhedo sadio (GUERRA, 2001).

A produção de uvas no Brasil encontra-se principalmente nas regiões sul e, em Santa Catarina, é uma exploração agrícola tradicional ligada à sócio-economia de regiões de origem italiana que, segundo Botton *et al.* (2003), vem encontrando dificuldades que praticamente inviabilizam o cultivo em determinadas áreas sem a utilização de práticas modernas. Para superar tais limitações, os pesquisadores recomendam o uso de porta-enxertos de videira para melhorar o desempenho dos vinhedos no desenvolvimento inicial das plantas, no vigor geral das videiras e na produção de cachos e bagas com características adequadas à vinificação.

Guerra (2001) observa que o porta-enxerto Paulsen 1103 pertence ao grupo *Vitis*

1 Aluna da turma de Agropecuária 2011-1, thomejulia11@hotmail.com.

2 Alunos colaboradores da turma Mista 2012-1, rene_nadal@hotmail.com.

3 Professor Coordenador, aledson.torres@ifc-videira.edu.br.

4 Professora Orientadora, lilianebrito@ifc-videira.edu.br.

berlandieri x *Vitis rupestris* e teve grande difusão no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina por apresentar tolerância à fusariose, doença comum nas zonas vitícolas da Serra Gaúcha e do Vale do Rio do Peixe. Também por ser vigoroso, por enraizar com facilidade, por apresentar boa pega de enxertia e boa afinidade geral com os diversos cultivares.

Pelo método tradicional de propagação, a quantidade de mudas obtidas sofre restrições conforme a capacidade do viveirista, pois o processo demanda muito tempo, mão-de-obra e considerável espaço físico, além de possibilitar eventualmente a propagação de materiais com problemas fitossanitários. Técnicas de cultura de tecidos podem propiciar a obtenção de maiores quantidades de materiais de propagação da videira, em tempo abreviado, e de melhor qualidade fitossanitária. Nesse sentido, muitos pesquisadores têm experimentado com relativo sucesso sua propagação através do cultivo *in vitro* ou micropropagação (BARBOSA *et al.*, 1986).

Contudo um dos desafios encontrados para a propagação *in vitro* dessas plantas é a contaminação por micro-organismos, ficando evidente a necessidade de estudos específicos para definir práticas de propagação adequadas à cultura da videira, suprimindo as demandas das regiões vitivinícolas de Santa Catarina de mudas com qualidade genotípica e fitossanitária. Além de estabelecer e multiplicar *in vitro* o porta-enxerto de videira de interesse comercial Paulsen 1103 e avaliar o desenvolvimento de micro-organismos que são parâmetros fundamentais à micropropagação.

2 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

O experimento foi conduzido no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Catarinense Câmpus Videira, durante o período de julho de 2011 a junho de 2012, com a variedade de porta-enxerto de videira Paulsen 1103.

Primeiramente obteve-se as plantas matrizes do porta-enxerto de videira Paulsen 1103 (*Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris*) com alta resistência à fusariose, provenientes da Epagri, Videira, SC, mantendo-as em casa de vegetação. A partir das plantas matrizes, foram retirados explantes contendo gemas axilares, que foram imersos por 10 min em água destilada com detergente Tween 20 (20 gotas/L); 3 min em álcool 70% em agitação. Em câmara de fluxo laminar, permaneceram por 15 min em hipoclorito de sódio (1,5%) com Tween 20 (20 gotas/L) e foram submetidos a três lavagens com água destilada.

Segmentos nodais desinfectados do porta-enxerto Paulsen 1103 foram inoculados em meio de cultura nutritivo MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) padrão, solidificado com 6 g L⁻¹ de ágar (Merck®), pH ajustado para 6,4, antes da autoclavagem a 120°C e 1 atm por

20 minutos, adaptado pela adição de fungicida ou hipoclorito de sódio, para o controle de fungos. Utilizou-se o meio de cultura MS sem fungicida ou hipoclorito de sódio como testemunha. Ao tratamento 1 adicionou-se 0,003% de hipoclorito de sódio (RIBEIRO & TEIXEIRA, 2008) e ao tratamento 2 acrescentou-se 0,125% do fungicida Tebuconazole (ANDRADE *et al.*, 2008).

Posteriormente à inoculação, os explantes foram transferidos para sala de crescimento com temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 12 horas. Após sete dias o experimento foi avaliado quanto a presença ou ausência de micro-organismos. Cada unidade experimental foi constituída de 20 plântulas e cinco repetições. O delineamento dos experimentos foi o inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK) a 5% de probabilidade com auxílio do programa STATIGRAPHICS 7.0 (SOKAL & ROHFL, 1995, citado por BORGHEZAN *et al.*, 2003).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As práticas da propagação *in vitro* do porta enxerto Paulsen 1103 realizada em dezembro de 2011, e acompanhada em janeiro de 2012, serviu para constatar que muitos recipientes com explantes em meio de cultura MS não se desenvolveram pela proliferação de micro-organismos, especialmente por fungos. Observou-se que a contaminação no meio de crescimento provinha do material vegetativo e não de problemas provenientes na elaboração do meio de crescimento MS ou dos materiais ou, ainda, dos métodos utilizados no momento da implantação dos explantes. Esse fato pode ser observado pela não contaminação dos meio de culturas excedentes ao experimento (testemunha) e pelo desenvolvimento dos explantes quando a contaminação foi em menor magnitude como observado na figura 1.

Para o estudo, considerou-se a descontaminação superficial dos explantes mais difícil de ser realizada do que a alteração do meio de cultura com produtos que pudessem controlar a proliferação de micro-organismos, em função dos cuidados e procedimentos já adotados anteriormente. Optou-se, então, por ajustes no meio de crescimento: um acrescido de hipoclorito de sódio (Meio de cultura MS com 0,003% de NaClO) (RIBEIRO & TEIXEIRA, 2008), para a esterilização desse meio nutritivo, e outro com fungicida Tebuconazole (Meio de cultura MS com 0,125% de Tebuconazole) (ANDRADE *et al.*, 2008).

Figura 1. Exemplos de meio de cultura MS implantados ou não com explantes do porta enxerto Paulsen 1103, destacando a proliferação de micro-organismos em C.



(A) Meio de cultura excedente (B) Meio de cultura com (C) Meio de cultura com utilizado no experimento explante em crescimento no grande proliferação de como testemunha. meio de cultura, com micro-organismos, o pequeno foco de explante não se contaminação. desenvolveu.

Com a realização do experimento, observou-se que a contaminação com micro-organismo dos meio de crescimento continuou ocorrendo em 100% das amostras testemunhas (Meio de cultura MS), 100% das amostras com hipoclorito de sódio (Meio de cultura MS com 0,003% de NaClO) e 8% das amostras com Tebuconazole (Meio de cultura MS com 0,125% de Tebuconazole), após sete dias da inoculação do explantes como demonstra a figura 2. As amostras com fungicida além de não propiciarem o desenvolvimento de micro-organismos, findaram por ocasionar a morte dos explantes do porta-enxerto de videira Paulsen 1103 no meio de crescimento.

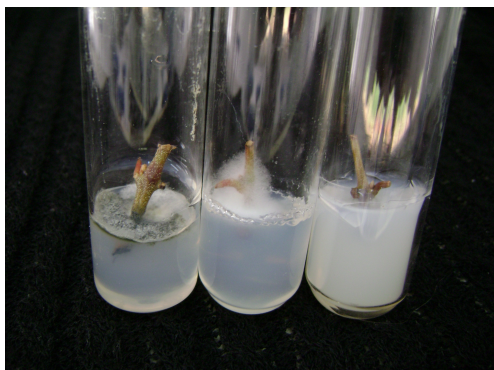


Figura 2. Da esquerda para a direita os meio de culturas: MS testemunha e MS com hipoclorito de sódio, ambos contaminados com micro-organismos; e MS com Tebuconazole não sendo observada contaminação com micro-organismos, porém sem o desenvolvimento do explante.

4 CONCLUSÃO

As plântulas avaliadas após crescimento em meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) e em câmara de crescimento, apresentaram 100% de contaminação fúngica afetando seu desenvolvimento para posterior repicagem e aclimação.

Os estudos para o controle de micro-organismos com meio de cultura MS com 0,003% de NaClO (hipoclorito de sódio) e com meio de cultura MS com 0,125% de fungicida (Tebuconazole), não conseguiram controlar a proliferação fúngica, no caso do meio de cultura com hipoclorito de sódio, ou findaram por intoxicar as plântulas em crescimento, no caso do meio de cultura com fungicida, evidenciando a necessidade da continuação dos estudos.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, S. R. M.; OLIVEIRA, W. C.; CHARCHAR, M. J. D.; LOPES, J. D.; FALEIRO, F. G.; DOS ANJOS, J. de R. N.; PEIXOTO, J. R. Micropropagação de gemas laterais de mangueira: controle do crescimento de fungos. IX Simpósio Nacional do Cerrado. Brasília – DP. Outubro, 2008.

BARBOSA, W.; DALL'ORTO, F. A. C.; OJIMA, M.; CAMPOS, S. A. F. C.; TOMBOLATO, A. F. C.. Propagação vegetativa *in vitro* de cultivares de macieira. *Bragantia*, Campinas 45(1): 143 – 154, 1986.

BORGHEZAN, M.; MORAES, L. K. A, de; MOREIRA, F. M.; SILVA, A. L. Propagação *in vitro* e avaliação de parâmetros morfofisiológicos de porta-enxertos de videira. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v. 38, n. 7, p. 783-789, jul. 2003.

BOTTON, M.; SORIA, S. de J.; HICKEL, E. R. Uvas viníferas para processamento em regiões de clima temperado. *Embrapa Uva e Vinho. Sistema de Produção*, 4. ISSN 1678-8761. Versão Eletrônica. Jul./2003.

GUERRA, C. C. Maturação da uva e condução da vinificação para a elaboração de vinhos finos. In: REGINA, M. A. (Ed). *Viticultura e enologia: atualizando conceitos*. Caldas: EPAMIG – FECD, 2001, p. 179 – 192.

MARTINS, L. Comportamento vitícola e enológico das variedades chardonnay, pinot noir, e cabernet sauvignon, na Lomba Seca, em São Joaquim (SC). Florianópolis. UFSC. Dissertação de Mestrado. 2006. 144p.

RIBEIRO, J. M.; TEIXEIRA, S. L. Esterilização química de meios nutritivos para cultivo *in vitro* de plantas. Comunicado Técnico - 136. Embrapa. Petrolina – PE. Dezembro, 2008.