

**AGUINALDO SERAFIM DE SOUZA**

**EFEITOS DA SACAROSE E DO FOTOPERÍODO NA PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DA CV. ÉBANO DE AMORA-PRETA E DOS PORTA-ENXERTOS DE MACIEIRA “MM.111” E PEREIRA *Pyrus calleryana* Deene.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

**Orientador**

**Prof. Dr. MOACIR PASQUAL**

**LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
1995**

**AGUINALDO SERAFIM DE SOUZA**

**EFEITOS DA SACAROSE E DO FOTOPERÍODO NA PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DA CV. ÉBANO DE AMORA-PRETA E DOS PORTA-ENXERTOS DE MACIEIRA “MM.111” E PEREIRA *Pyrus calleryana* Deene.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

**Orientador**

**Prof. Dr. MOACIR PASOUAL**

BRASIL  
1995

FICHA CATALOGRÁFICA PREPARADA PELA SEÇÃO DE CATALOGAÇÃO E  
CLASSIFICAÇÃO DA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFLA

Souza, Aguinaldo Serafim de.

Efeitos da sacarose e do fotoperíodo na propagação *in vitro* da cv. Ébano de amora-preta e dos porta-enxertos de macieira "MM.111" e pereira *Pyrus calleryana* Deene. / Aguinaldo Serafim de Souza. -- Lavras : UFLA, 1995.

36 p. : il.

Orientador: Moacir Pasqual.

Dissertação (Mestrado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Amora-preta. 2. Maçã. 3. Pera. 4. Cultura de tecido. 5. Propagação. 6. Porta-enxerto. 7. Sacarose. 8. Fotoperíodo. 9. Meio de cultura. 10. Brotação. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

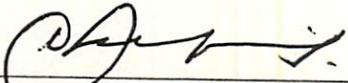
CDD-631.53

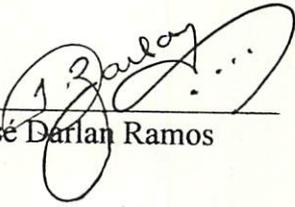
# AGUINALDO SERAFIM DE SOUZA

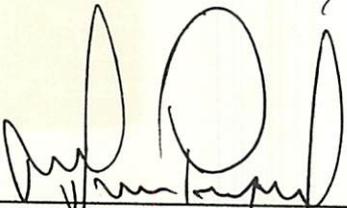
## EFEITOS DA SACAROSE E DO FOTOPERÍODO NA PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DA CV. ÉBANO DE AMORA-PRETA E DOS PORTA-ENXERTOS DE MACIEIRA “MM.111” E PEREIRA *Pyrus calleryana* Deene.

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 30 de agosto de 1995

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Nilton Nagib Jorge Chalfun

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. José Darlan Ramos

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Moacir Pasqual  
(Orientador)

**Aos meus pais José Cândido e Therezinha Seraphim,  
pelo esforço e dedicação na minha formação.**

**Aos meus irmãos e irmãs, pelo estímulo e amizade.**

**À Reisilane, pelo apoio e carinho.**

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais FAPEMIG, pelo auxílio na execução de projetos.

Ao Professor Moacir Pasqual, pela orientação, disponibilidade e amizade.

Aos Professores José Darlan Ramos e Nilton Nagib J. Chalfun pelo apoio, amizade e sugestões para êxito deste trabalho.

Ao Professor Daniel Furtado Ferreira pela valiosa ajuda e amizade.

Ao Professor Ricardo Magela de Souza, pelo incentivo e amizade.

Ao Clovis Maurílio pela ajuda na digitação do trabalho.

Aos colegas do curso de Pós-Graduação, pela amizade e alegre convívio durante o curso.

Ao Evaldo e ao Vantuil, e a todos amigos do Laboratório de Cultura de Tecidos.

Enfim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE QUADROS .....	v
LISTA DE FIGURAS .....	vi
RESUMO .....	vii
SUMMARY .....	ix
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	3
2.1 Considerações sobre as espécies utilizadas .....	3
2.1.1 Amora-preta .....	3
2.1.2 Porta-enxertos “MM.111” e <i>Pyrus calleryana</i> Deene .....	4
2.2 Propagação através da cultura de tecidos .....	5
2.2.1 Meio de cultura .....	7
2.2.2 Carboidratos .....	9
2.2.3 Temperatura, Luminosidade e Fotoperíodo .....	11
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	14
3.1 Material .....	14
3.2 Condução do experimento .....	14
3.3 Delineamento experimental e avaliação .....	15
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	17
4.1 Porta-enxerto ‘MM.111’ .....	17
4.2 Cultivar Ébano de amora-preta .....	21
4.3 Porta enxerto <i>Pyrus calleryana</i> Deene .....	27
5 CONCLUSÕES .....	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	32

## LISTA DE QUADROS

Quadro		Página
1	Resumo da análise de variância para o número médio estimado do total de brotos e de brotos $\geq 1,0$ cm de comprimento do porta enxerto de macieira "MM.111", em diferentes concentrações de sacarose e fotoperíodo, UFLA-Lavras-MG, 1995 .....	17
2	Resumo da análise de variância para o número total de brotos e de brotos $\geq 1,0$ cm de comprimento, da cv. Ébano de amora-preta, em diferentes concentrações de sacarose e fotoperíodo, UFLA-Lavras-MG, 1995 .....	22
3	Resumo da análise de variância para o número médio estimado do total de brotos e de brotos $\geq 1,0$ cm de comprimento, do porta-enxerto <i>Pyrus calleryana</i> Deene, em diferentes concentrações de sacarose e fotoperíodos, UFLA-Lavras-MG, 1995 .....	27

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Número médio estimado do total de brotos em função de diferentes concentrações de sacarose dentro de cada nível de fotoperíodo para o porta enxerto macieira “MM.111”, UFLA-Lavras-MG, 1995 .....	18
2	Número médio estimado de brotos $\geq$ a 1 cm em função de diferentes concentrações de sacarose dentro de cada nível de fotoperíodo para o porta enxerto macieira “MM.111”, UFLA-Lavras-MG, 1995 .....	20
3	Número médio estimado do total de brotos em função de diferentes concentrações de sacarose para a amora-preta, UFLA-Lavras-MG, 1995 .....	22
4	Número médio estimado do total de brotos em função de diferentes fotoperíodos para a amora-preta, UFLA-Lavras-MG, 1995 .....	24
5	Número médio estimado de brotos $\geq$ 1,0 cm em função de diferentes concentrações de sacarose para a amora-preta, UFLA-Lavras-MG, 1995 .....	25
6	Número médio estimado de brotos $\geq$ 1,0 cm em função de diferentes fotoperíodos para a amora-preta, UFLA-Lavras-MG, 1995 .....	26
7	Número médio estimado do total de brotos em função de diferentes concentrações de sacarose para porta-enxerto de <i>Pyrus calleryana</i> , UFLA-Lavras-MG, 1995 .....	28
8	Número médio estimado de brotos $\geq$ 1 cm em função de diferentes concentrações de sacarose para porta-enxerto de <i>Pyrus calleryana</i> Deene, UFLA-Lavras-MG, 1995 .....	29

## RESUMO

SOUZA, Aguinaldo Serafim de. **Efeitos da sacarose e do fotoperíodo na propagação *in vitro* da cv. Ébano de amora-preta e dos porta-enxertos de macieira “MM.111” e pereira *Pyrus calleryana* Deene.** Lavras: UFLA, 1995. 36p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia)\*

Objetivou-se com esse trabalho, estudar os efeitos de várias concentrações de sacarose, combinadas com diferentes fotoperíodos, sobre a taxa de brotações ‘*in vitro*’ dos segmentos caulinares da cv. Ébano de amora preta e dos porta-enxertos de macieira ‘MM.111’ e de pereira *Pyrus calleryana* Deene. Para instalação dos experimentos, brotações com aproximadamente 1,5 cm de comprimento, das três diferentes espécies citadas, foram inoculadas em tubos de ensaio, contendo 10 ml do meio MS suplementado com 5 concentrações de sacarose (0,0; 15; 30; 45 e 60 g/L). Posteriormente esses tubos foram distribuídos em câmaras para B.O.D. com fotoperíodo ajustado para 8/16; 10/14; 14/10; 16/8 horas luz/escuro com temperatura de 25°C e intensidade luminosa de 1500 lux. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 5×4. Após o período de 30 dias, foram realizadas as avaliações, registrando o número total de brotos e número de brotos ≥ 1 cm de comprimento. Os resultados foram interpretados estatisticamente por meio de análises de variância e regressão. De modo geral, as diferentes concentrações de sacarose

---

\* Orientador: Moacir Pasqual. Membros da banca: Nilton Nagib Jorge Chalfun e José Darlan Ramos.

influenciaram na multiplicação e crescimento das novas brotações das espécies testadas. A melhor combinação para o número total de brotos e número de brotos  $\geq 1.0$  cm para o porta-enxerto de macieira 'MM.111', foi de 60 g/L de sacarose com fotoperíodo de 8 horas. Para a cv. Ébano de amora-preta o melhor tratamento para a multiplicação dos brotos, ocorreu com 35,2 g/L de sacarose e fotoperíodo de 16 horas, enquanto que para brotos  $\geq 1$  cm, a concentração de sacarose foi de 30 g/L de sacarose e fotoperíodo de 13 horas. A sacarose influenciou também no número de brotos do porta-enxerto de pereira *Pyrus calleryana* Deene. A concentração de 60 g/L de sacarose, promoveu o maior número de brotos e a maior produção de brotos  $\geq 1$  cm de comprimento.

## SUMMARY

### **EFFECTS OF SUCROSE AND OF PHOTOPERIOD IN PROPAGATION *IN VITRO* OF CV. EBANO OF BLACKBERRY AND OF ROOTSTOCK OF APPLE TREE “MM.111” AND PEAR *Pyrus calleryana* Deene.**

This work aimed to study the effects of several concentrations of sucrose, combined with different photoperiods, upon the *in vitro* sprout rate of the cultivar Ébano of blackberry and rootstocks of apple tree “MM.111” and pear tree *Pyrus calleryana* Deene. For setting up of the experiments, sproutings about 1.5 cm long from the three different species quoted, were inoculated in teste tubes containing 10 ml of the MS medium and supplied with five concentrations of sucrose (0,0; 15;30;45 and 60 g/L). Afterwards, these tubes were allocated to the B.O.D. chambers with photoperiods fitted to 8/16; 10/14; 14/10 and 16/8 hours light/dark with temperature of 25°C and light intensity of 1500 lux. The experimental design utilized was the completely randomized in a 5×4 factorial scheme. After the period of 30 days, the evaluations were accomplished, recording the total number of sprouts and number of sprouts  $\geq 1,0$  cm in length. The results were interpreted by means of analyses of variance and regression. In general, the different concentration of sucrose influenced both the multiplication and growth of the new sproutings of the species tested. The best combination to the total number of sprouts and number of sprouts  $\geq 1.0$  cm in length for the apple tree rootstock MM.111, was 60 g/L of sucrose with a 8 hour photoperiod. To the cultivar Ebano of blackberries, the treatment for sprout multiplication

occurred with 35 g/L of sucrose and a 16 hour photoperiod, while for sprout  $\geq 1,0$  cm, the concentration was 30 g/L of sucrose and photoperiod of 13 hours. Sucrose also influenced the number of sprouts of the rootstock of the pear tree *Pyrus calleryana*. The concentration of 60 g/L of sucrose promoted the greatest number of sprouts and the greatest production of sprouts  $\geq 1,0$  cm length.

## 1 INTRODUÇÃO

O interesse que a fruticultura vem despertando atualmente, como uma alternativa viável de produção, sustentada pela possibilidade de desencadear um processo de desenvolvimento industrial e social, aumento de oferta de frutas, melhoria da dieta alimentar, faz com que novas tecnologias e novas áreas sejam exploradas com a fruticultura.

O Estado de Minas Gerais apresenta uma privilegiada diversificação climática, que propicia a implantação das mais diversas frutíferas, desde as que exigem ambientes tropicais até aquelas que necessitam de baixas temperaturas, identificando-o como um Estado com ótima vocação frutícola.

Entretanto, na formação de pomares, tem-se verificado efeitos desastrosos, face a utilização de mudas obtidas à partir de material propagativo não selecionado, de baixa produtividade, com frutos de qualidade inferior e com problemas de doenças, principalmente viroses, que vão se agravando nas sucessivas gerações através da propagação vegetativa. Esta situação na propagação, encontra-se numa fase bastante incipiente, comprometendo a vegetação, produtividade e estabilidade econômica da exploração frutícola, e até, em certos casos, pode torná-la inviável.

Dentro deste contexto, as técnicas de cultura de tecidos vegetais revestem-se de fundamental importância, permitindo selecionar e obter plantas com alta potencialidade

qualitativa, com genuínas características varietais, isentas de viroses e em grandes quantidades em curto espaço de tempo.

No entanto, a determinação das condições ótimas de cultivo *in vitro* é essencial para um eficiente sistema de propagação, pois, os fatores químicos e físicos influenciam de maneira diferente as várias espécies de plantas. A sacarose, por exemplo, usada como fonte de carbono, pode alterar a taxa fotossintética, o potencial osmótico do meio, a absorção de nutrientes de acordo com a concentração utilizada. Já em relação ao fotoperíodo, a determinação do mínimo de luz requerida para satisfazer o crescimento de cada espécie ou cultivar, é uma considerável vantagem na redução do custo de produção.

O objetivo do presente trabalho foi verificar *in vitro* os efeitos de diferentes concentrações de sacarose e diferentes fotoperíodos, na taxa de brotação da amora-preta cv. Ébano e de porta-enxertos de macieira e pereira cultivares “MM.111” e de *Pyrus calleryana* Deene, respectivamente.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Considerações sobre as espécies utilizadas

#### 2.1.1 Amora-preta

A cultivar Ébano é originária da seleção da população F<sub>2</sub>, do cruzamento das cultivares Comanche X (Thornfree X Brazos), pertence à família Rosaceae, ao gênero *Rubus*, subgênero Eubatus, espécie *Rubus caesius* (L.) (Moore, 1984).

Conforme Bassols e Moore (1981), a espécie apresenta algumas características botânicas, como, caule semi-ereto, pequena quantidade de espinhos, produtividade em torno 6000 Kg/ha e boa adaptação às condições de baixa temperatura. Os frutos são de coloração preta brilhante, com peso entre 5,0 e 6,5 g, com polpa firme. Os frutos são consumidos “in natura”, em forma de geléias e também adicionados em iogurtes em função da coloração e sabor. A maturação dos frutos é tardia, em relação a outras cultivares(cherokee e comanche), sendo um fator desejável para a indústria no sul do Brasil, visto que seu processamento ocorre depois do pico de colheita do pêssego.

Segundo Moore (1984), no Brasil, estirpes do Tobacco Streak Vírus (TSV) tem infectado as culturas, ocasionando reduções na vegetação e produtividade. As transmissões dos

vírus, geralmente ocorrem através do trips (*Frankliniella* sp) que hospedam-se em plantas contaminadas nos pomares. A disseminação do vírus ocorre através da propagação de hastes e estacas de raiz *in vivo*.

Babic e Neskovic (1984) e Broome e Zimmerman (1978) relatam que a propagação da amora preta por cultura de tecidos resultaram em grande sucesso com obtenção de plantas livres de vírus.

### **2.1.2 Porta-enxertos “MM.111” e *Pyrus calleryana* Deene**

A macieira pertence a família das Rosáceas, gênero *Malus* e, é descrita como originária da região Mediterrânea da Europa e América do Norte (Penteado, 1986).

Segundo Denardi (1986), o porta enxerto de macieira “MM.111” é um híbrido resultante do cruzamento entre (Norten Spy X MI 793) e pertence a série MM (Malling Merton). Ainda conforme o autor, o “MM.111” é considerado um dos melhores porta-enxertos, para solos arenosos e secos, possuindo um sistema radicular amplo e bem equilibrado. Devido ao porte semi-vigoroso, é mais indicado para solos com baixa fertilidade, produzindo plantas menores, que facilitam os tratos culturais e a colheita. É caracterizado também pela resistência ao pulgão lanígero (*Eriosoma lanigerum*) que debilita o desenvolvimento das plantas, causando uma desorganização ao sistema radicular, pela liberação de toxinas e extração de seivas das partes lenhosas e dos brotos tenros.

Quanto a pereira, uma frutífera típica de clima temperado, têm como centro de origem a região asiática e pertence a família das Rosáceas gênero *Pyrus* (Penteado 1986).

Segundo Nogueira (1985), o porta enxerto de pereira cultivar *Pyrus calleryana* Deene é caracterizado por antecipar a frutificação e tolerar melhor às condições de umidade dos solos, apresentar resistência à *Phytophthora* e por induzir menor porte à planta, possibilitando pomares com maior densidade de plantio. O *Pyrus calleryana* Deene também promove boa qualidade nos frutos e mostra-se compatível com a maioria das cultivares.

## 2.2 Propagação através da cultura de tecidos

O emprego das técnicas de cultura de tecidos têm melhorado progressivamente a propagação de plantas, possibilitando avanços consideráveis no melhoramento genético, na produção de plantas saudáveis, no intercâmbio e conservação de germoplasma. Essa técnica, é baseada no fenômeno da totipotência das células vegetais, ou seja, cada célula possui a capacidade de regenerar uma nova planta quando submetida às condições especiais (Gamborg e Shyluck, 1981).

Em inúmeras espécies de frutíferas, que apresentam dificuldade de multiplicação pelos métodos convencionais, utiliza-se com sucesso da micropropagação (Broome e Zimmerman, 1978; Stimart e Harbage, 1989; Jones e Webster, 1993; Fasolo, Zimmerman e Fordham, 1989; Pawlicki e Welander, 1994), permitindo a obtenção de um grande número de plantas geneticamente idênticas em curto período de tempo e com possibilidades de obtenção de plantas livres de viroses. Mas, entretanto, ao iniciar programas de micropropagação e para induzir a morfogênese, devem ser considerados os tipos e tamanho dos explantes, pois as reações são variadas entre os diversos tecidos utilizados.

Os explantes mais indicados na multiplicação clonal “in vitro” são ápices caulinares, gemas axilares e meristemas que normalmente mantêm a fidelidade genotípica da planta matriz (Grattapaglia e Machado, 1990). Segundo Otoni (1988), o tamanho, o número médio e o vigor dos novos brotos são influenciados pelo tipo, localização e o tamanho do explante utilizado na cultura.

Para proliferação de brotos adventícios de porta-enxerto de macieira e pereira, foram empregados brotos caulinares com aproximadamente 1,5 cm de comprimento (Yae, Zimmerman e Fordham, 1987; Welander, 1988; Webster e Jones, 1989).

Lane (1979), demonstrou que a remoção de gemas apicais de brotos de pereira, seguida de sua colocação em posição horizontal no meio de cultivo, estimulou o crescimento das gemas laterais. Com esse mesmo objetivo, de aumento de brotações adventícias, Pawlicki e Welander (1994) obtiveram sucesso, através do cultivo de fragmentos de folhas do porta-enxerto de macieira Jork 9 (*Malus pumila*) posicionando o explante com a superfície abaxial sobre o meio de cultura.

Para obtenção de plantas livres de viroses, Babic e Neskovic (1984) verificaram que em amora-preta o tamanho ideal dos meristemas excisados estava compreendido entre 0,2 a 0,5 mm.

Importantes variações no hábito, morfologia e performance, tem sido observadas frequentemente em plantas regeneradas, através da cultura de tecidos (Austin e Cassells 1982). No porta enxerto de macieira M9 (*Malus pumila*), Webster e Jones (1989) descrevem que o subcultivo durante a micropropagação apresentou graduais variações fisiológicas, atingindo o rejuvenescimento.

Gonçalves (1982), relata que a multiplicação sucessiva *in vitro* do material vegetativo de árvores adultas de *Eucalyptus urophylla*, foi eficiente na reversão à juvenilidade. Estas variações são caracterizadas por uma melhoria na produção de brotos e também na capacidade de regeneração de raízes adventícias. Stimart e Harbage (1989) relatam que as gemas de *Malus domestica* Borkh. cv. jonathan mantidas *in vitro* resultaram em 8%, 62% e 95% de enraizamento, após o cultivo inicial e depois de 4 e 9 subcultivos, respectivamente.

Jones e Webster (1993), em porta enxerto de pereira *Pyrus communis*, conseguiram aumentos significativos no número médio de brotações, de 1,3 a 11 brotos, com os subcultivos durante 4 e 62 meses. Com outras espécies como o porta enxerto *Prunus insititia*, o subcultivo por mais de 9 anos, tem fornecido micropropágulos rejuvenescidos, melhorando a propagação pelo método convencional no campo (Howard, Jones e Vasek, 1989). Em *Pyrus calleryana* a proliferação extensiva de brotos laterais ocorreu depois de 7 meses de subcultivos (Stimart e Harbage, 1989), sugerindo assim que para o início do desenvolvimento de brotações é necessário um substancial período de tempo.

Conforme Schmidt (1994), foi obtido inicialmente 30% de enraizamento em ramos de mamoeiro micropropagados e, passados 18 meses de subcultivos sucessivos, o enraizamento chegou a 60%, com o mesmo tipo de meio de cultura.

### 2.2.1 Meio de cultura

O meio de cultura utilizado nas diversas fases da micropropagação deve sustentar as necessidades para um ótimo crescimento e diferenciação dos tecidos “*in vitro*” (Caldas, Haridasan e Ferreira, 1990). O meio Murashige e Skoog (1962) (MS) completo ou com reduções

dos sais, suplementado com vitaminas, principalmente tiamina, tem-se mostrado satisfatório para o desenvolvimento das culturas da macieira, pereira e amora-preta (Coffin, Taper e Chong, 1976; Skirvin, Chu e Gomez, 1981; Pua, Chong e Rouselle, 1983; Fasolo, Zimmerman e Fordham, 1989).

Lane (1979) obteve bons índices de enraizamento em pereira com 30% e 20% da concentração de sais recomendado pelo meio MS.

Quanto aos reguladores de crescimento, as auxinas e as citocininas são as classes mais utilizadas na cultura de tecidos. Skoog e Miller (1957) mostraram que com um adequado balanço nos níveis entre esses dois grupos de fitorreguladores, foi possível a indução tanto de raízes como parte aérea, à partir de tecidos da medula do fumo.

Na multiplicação de brotos axilares em macieira, pereira e amora-preta os reguladores de crescimento mais utilizados são 6-Benzilaminopurina (BAP) 2,0 mg/L e ácido indol butírico (AIB) 0,1 a 2,0 mg/L (Broome e Zimmerman, 1978; Ochatt e Caso, 1983; Shen e Mullins, 1984; Yae, Zimmerman e Fordham, 1987; Welander, Welander e Brackman, 1989).

Entretanto, as auxinas exógenas, quando adicionadas em altas concentrações no meio de cultura inibem a formação(ou indução) de gemas laterais (Hasegawa, 1980). Para concentrações de 3,0 a 5,0 mg/L de BAP, Lundergan e Janick (1980) obtiveram muitos brotos atrofiados em macieira.

Segundo Sriskandarajah e Mullins (1981), o 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D) é raramente usado em macieira, pois tem efeito inibitório sobre as brotações e também induz a formação de calos.

### 2.2.2 Carboidratos

Os tecidos e órgãos cultivados *in vitro* apresentam pouca ou nenhuma capacidade fotossintética, devido a proporção de CO<sub>2</sub> absorvido e fixado ser menor do que as plantas de origem *in vivo* (Smith, Palta e Mccown, 1986; Kozai e Iwabuchi, 1991). Logo, requerem uma fonte externa de carbono para o fornecimento da energia metabólica e esqueleto carbônico para a biossíntese dos compostos orgânicos, como celulose, aminoácidos e proteínas, necessários para o crescimento das células (George e Sherrington 1984).

Como fonte de carboidratos na propagação *in vitro* (Caldas, Haridasan e Ferreira, 1990; Gamborg e Shyluck, 1981; Thompson e Thorpe, 1987) tem-se como padrão a sacarose, que possui alta solubilidade, rápida metabolização, suporta as mais altas taxas de crescimento e por ser o açúcar mais transportado pela maioria das células.

De acordo com Gamborg (1984), a assimilação do nitrogênio para o crescimento “*in vitro*” da planta, é dependente da concentração de sacarose, fornecida de forma exógena.

Porém, várias tentativas tem sido realizadas para induzir fotoautotrofismo, ou seja, produção da própria energia pela fotossíntese com omissão da sacarose no meio de cultura, objetivando aumentar a sobrevivência das plantas na aclimatização, reduzir os custos de produção e contaminações (Grout e Millam, 1985; Kozai e Iwabuchi 1991). Entretanto, Drew e Miller (1989) verificaram que, com ausência de sacarose no meio de cultivo, houve uma drástica redução na porcentagem de enraizamento do mamoeiro. Langford e Wainwright (1987) cultivaram brotos de rosas em diferentes concentrações de sacarose (0 a 40 g/L), e observaram que o crescimento não ocorreu em meio sem a sacarose. Segundo esses mesmos autores, em

relação a capacidade fotossintética, foi verificado um aumento significativo, quando a concentração de sacarose foi reduzida para 10 g/L no meio de cultura.

A exigência da sacarose varia com a espécie e cultivar, e as concentrações de 10 a 30 g/L tem sido utilizadas com sucesso na propagação de macieira (Snir e Erez, 1980; Jones Hopgood e O'Farrel, 1977; Ochatt e Caso, 1983) pereira (Lane, 1979; Stimart e Harbage, 1989; Rodriguez e Diaz Sala, 1991) e amora-preta (Skirvin, Chu e Gomez, 1981; Fernandez e Clark, 1991).

Concentrações de sacarose abaixo desse intervalo, 10 a 30 g/L, tem provocado clorose e morte de explantes em macieiras *Granny smith* (Sriskandarajah e Mullins, 1981) e em brotos de rosas (Langford e Wainwright, 1987).

Chong e Pua (1985), utilizando diferentes fontes de carboidratos no cultivo *in vitro*, conseguiram 100% de enraizamento e maior número de brotos (4,1 brotos) em porta enxerto de macieira Ottawa 3 com 30-40 g/L de sacarose. No entanto, Zimmerman (1983) não encontrou influência da concentração de sacarose entre 15 e 60 g/L, no enraizamento de brotos micropropagados de macieira.

Em *Narcissus*, através do cultivo "in vitro" de seus brotos, Chow, Selby e Harvey (1992) demonstraram que houve um estímulo na produção de bulbinhos, de 9% para 71% pelo simples aumento da concentração de sacarose de 3% para 9% no meio de cultura.

Os carboidratos, quando adicionados em altas concentrações, podem intervir no potencial osmótico do meio, pois durante o processo de esterilização por autoclavagem em altas temperaturas, a sacarose é hidrolizada em glicose e frutose, compostos osmoticamente ativos (Sawyer e Hsiao, 1992). Do e Cormier (1991) concluíram que em células de *uva* (*Vitis vinifera* L.), à medida que aumentavam a concentração de sacarose, resultava no aumento do

potencial osmótico do meio de cultura, influenciando no acúmulo de antocianina. Segundo Racca (1989), citado por Rodrigues (1994), a utilização de 50 g/L de sacarose no cultivo *in vitro* de alho, acarretou um aumento do stress hídrico, através do aumento do potencial osmótico do meio de cultivo, sendo que esse stress induziu a bulbificação em alho. Pawlicki e Welander (1994) sugerem como provável causa da diminuição de brotos e coloração avermelhada do explante de *Malus pumila* Mill, o stress osmótico com o uso de 50 g/L de sorbitol.

Em relação ao uso de outras fontes de carboidratos para promover a proliferação de brotos *in vitro*, o sorbitol têm demonstrado ser eficiente para o cultivo de macieira (Pua e Chong, 1984), talvez pelo fato que na família Rosaceae o sorbitol seja o primeiro produto da fotossíntese e a maior forma de translocação (Chong e Taper, 1971).

Através de diferentes fontes de carboidratos no meio de cultivo, Welander, Welander e Brackmam (1989) obtiveram um número significativo de 5,9 brotos, com sorbitol 40 g/L em macieira M.9. Esse efeito positivo do sorbitol também foi verificado por Pawlicki e Welander (1994) no cultivo do porta enxerto macieira Jork.9, com uma média de 4,9 brotos com 40 g/L de sorbitol, ao passo que 30 g/L de sacarose a média foi de 2,1 brotos.

### **2.2.3. Temperatura, luminosidade e fotoperíodo**

A temperatura exerce grande influência sobre a propagação *in vitro*, e a faixa ideal para a maioria das espécies situa-se entre 20 e 27°C (Lê, 1985).

Para o cultivo de brotos de macieira, a melhor temperatura é de aproximadamente 25°C (Abbott e Whiteley, 1976).

Através dos brotos apicais de *Pyrus communis*, Wang (1992) observou que a melhor porcentagem de enraizamento e número de raízes, ocorreram durante um período de 4 a 7 dias na ausência de luz com uma temperatura de  $25 \pm 2^\circ \text{C}$ . Com amora preta a propagação foi bem sucedida à temperatura de  $27^\circ \text{C}$  (Broome e Zimmerman, 1978).

Juntamente com a temperatura, a luz exerce importante função, no processo de regulação fotomorfogênico, embora seu efeito na fotossíntese *in vitro* seja menor que as plantas *in vivo* (Vince, 1964; George e Sherrington, 1984).

Baraldi, Rossi e Lercari (1988), buscando determinar o efeito da qualidade da luz na indução de brotos de pêssogo (*Prunus insisititia*) “*in vitro*”, observaram que a luz branca, vermelha e azul promoveram melhores resultados na respectiva ordem.

Para formação de brotos e raízes, tem sido reportada a influência da duração da luz, a qual a cultura foi mantida. Em geral, a maioria das espécies de plantas necessitam de fotoperíodo de 8 a 18 horas de luz (Economou e Read, 1987).

Yae, Zimmerman e Fordham (1987) relataram que o fotoperíodo de 16 horas produziu mais brotos em macieira do que o fotoperíodo de 24 horas para as cultivares McIntosh, Empire, Delicious, Triple Red Delicious. Esses mesmos autores registraram a maior proliferação de brotos para o porta enxerto de macieira M.26 em fotoperíodo de 16 horas do que em 12 horas.

Contudo, Sriskandarajah e Mullins (1982) verificaram que brotos de macieira com iluminação contínua, enraizaram melhor quando comparado com o cultivo com fotoperíodo de 16 horas.

Com o porta enxerto de pereira BP10030 (*Pyrus communis* L.), Wang (1992) conseguiu maior número de brotos, em 16 horas de fotoperíodo do que em luz contínua, e na

porcentagem de enraizamento tiveram efeito similar em 8, 16 e 24 horas de luz após incubação inicial por 5 dias na ausência de luz.

Para a propagação da amora preta, Broome e Zimmerman (1978); Babic e Neskovic (1984) e Fernandez e Clark (1991) estabeleceram ótimas condições para a multiplicação de brotos, em fotoperíodo de 16 horas de luz, com intensidade luminosa de 2000 a 3000 lux e temperatura em torno de 26° C.

Korban, Connor e Elobeidy (1992) observaram aumento significativo na regeneração de brotos adventícios, através da organogênese de folhas de importantes genótipos de *Malus*, desenvolvidos em baixa intensidade luminosa. Elliott (1987), citado pelos mesmos autores, relata que a baixa intensidade de luz estimula a organogênese pelo aumento do nível do ácido indolacético (AIA), hormônio que influi na divisão celular e diferenciação.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA)-Lavras-MG.

#### **3.1 Material**

Os materiais utilizados nos experimentos, foram segmentos nodais dos porta-enxertos de macieira “MM.111” e pereira (*Pyrus calleryana* Deene) e da cultivar Ébano de amora preta (*Rubus caesius* L.), obtidos pelo Centro Nacional de fruteiras de Clima Temperado RS, e mantidos *in vitro* no laboratório de Cultura de Tecidos da UFLA por sucessivas repicagens.

#### **3.2 Condução do experimento**

Os experimentos foram conduzidos em meio de cultura básico MS, suplementado com 5 concentrações de sacarose (0, 15, 30, 45 e 60 g/L) e com os reguladores de crescimento BAP (0,5 mg/L) e ANA (0,1 mg/L).

O pH do meio de cultura foi ajustado para  $5,8 \pm 1$  antes da adição do ágar, utilizando-se NaOH 1,0 N e HCl 1,0 N; e solidificado com 7.0 g/L de ágar.

Nos tubos de ensaio (25 x 150 mm) foi distribuído o meio (15 ml) e fechado com tampas de polipropileno.

No processo de esterilização, os tubos foram autoclavados em temperatura de 121° C e pressão 1,05 Kg/cm<sup>2</sup>, durante 20 minutos.

Em condições assépticas na câmara de fluxo laminar, foram realizadas as inoculações dos brotos com aproximadamente 1,5 cm de comprimento (1 broto por tubo), dos segmentos nodais dos porta-enxertos de macieira “MM.111” e pereira (*Pyrus calleryana* Deene) e da cultivar Ébano de amora preta (*Rubus caesius* L.).

Posteriormente os tubos foram distribuídos e mantidos em estufas para B.O.D., com fotoperíodo ajustado para 8/16; 10/14; 14/10 e 16/8 horas de luz/escuro, com temperatura de 25° C e intensidade luminosa de 1500 lux. As lâmpadas utilizadas foram do tipo grow lux e branca fria.

### **3.3 Delineamento experimental e avaliação**

Foram conduzidos 3 experimentos, avaliando a influência da sacarose e do fotoperíodo na proliferação de brotos, assim constituído.

Experimento A - Porta enxerto de Macieira ‘MM.111’.

Experimento B - Cultivar Ébano de amora-preta (*Rubus caesius* L.).

Experimento C- Porta enxerto de pereira *Pyrus calleryana* Deene

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 x 4 (5 concentrações de sacarose e 4 níveis de fotoperíodo) totalizando 20 tratamentos com 3 repetições, sendo cada parcela constituída por 3 tubos de ensaio.

As avaliações foram realizadas aos 30 dias após as inoculações, registrando-se o número total de brotos e número de brotos  $\geq$  a 1,0 cm de comprimento.

Para análise estatística os dados do número médio estimado do total de brotos e de brotos  $\geq$  a 1 cm de comprimento foram transformados em  $\sqrt{x+0,5}$  para o porta enxerto de macieira “MM.111”,  $\sqrt{x+1}$  para cultivar Ébano de amora preta e  $\sqrt{x+0,5}$  para porta enxerto de *Pyrus calleryana* Deene.

X = número médio de brotações.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Porta-enxerto 'MM.111'

No resumo da análise de variância (Quadro 1), observa-se que para a variável número total de brotos do porta enxerto de macieira "MM.111", ocorreu apenas diferença significativa para o fator sacarose, e para interação deste fator com o fotoperíodo.

QUADRO 1. Resumo da análise de variância para o número médio estimado do total de brotos e de brotos  $\geq 1,0$  cm de comprimento do porta enxerto de macieira "MM.111", em diferentes concentrações de sacarose e fotoperíodo, UFLA-Lavras-MG, 1995.

Causa de variação	GL	Quadrados médios	
		Número total de brotos	Número de brotos $\geq 1,0$ cm <sup>1</sup>
Fotoperíodo	3	0,269	0,588*
Sacarose	4	17,696**	11,706**
Fotoperíodo $\times$ Sacarose	12	0,583**	0,315*
Resíduo	40		
CV (%)		12,58	18,250

\* e \*\* Significativo a nível de 5% e 1% de probabilidade respectivamente pelo teste F

<sup>1</sup> Dados transformados segundo  $\sqrt{x + 0,5}$

Pelas análises de regressão representadas na Figura 1, verificou-se que o aumento na concentração de sacarose, proporcionou uma tendência de aumento no número médio

estimado do total de brotos produzidos. Esse resultado confirma a importância da sacarose como fonte de carbono e energia para o aumento na produção de proteínas e aminoácidos, necessários as novas brotações e corrobora Oliveira (1994) que observou em crisântemo, uma tendência de aumento no número de gemas brotadas, à medida que aumentou-se a concentração de sacarose no meio.

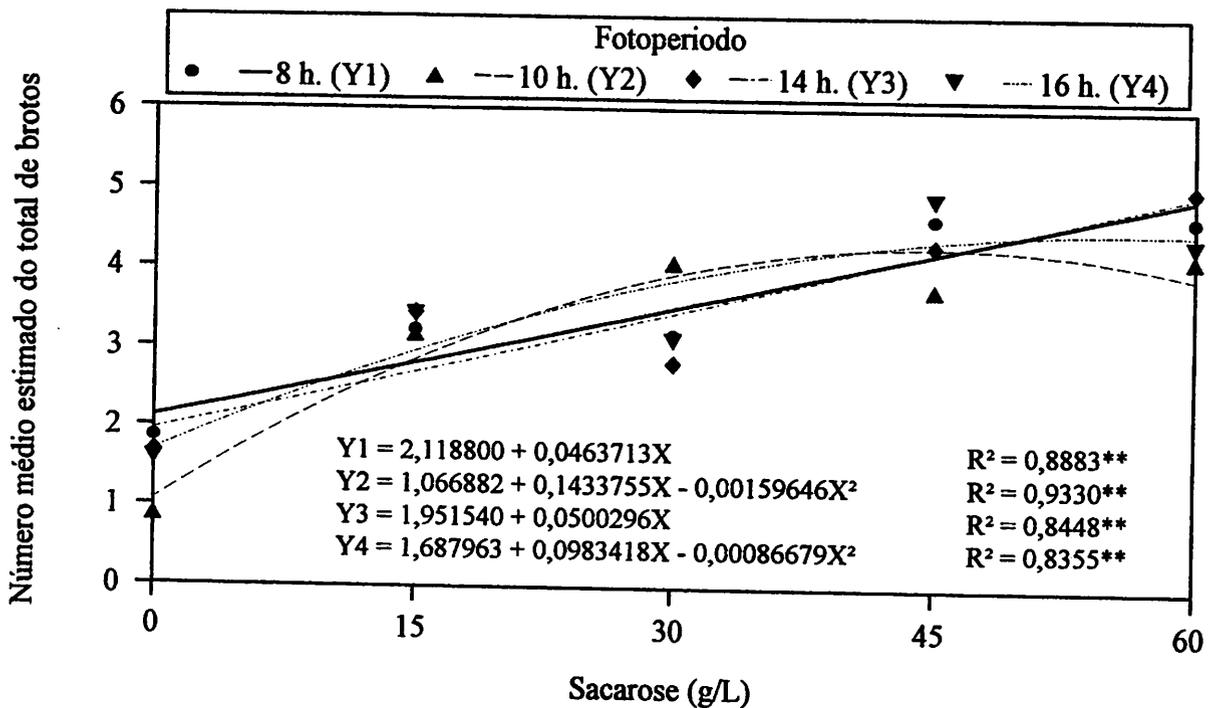


FIGURA 1. Número médio estimado do total de brotos em função de diferentes concentrações de sacarose dentro de cada nível de fotoperíodo para o porta enxerto macieira “MM.111”, UFLA-Lavras-MG, 1995. Dados transformados segundo  $\sqrt{x + 0,5}$ .

Pela Figura 1 observa-se, na produção de brotos um comportamento diferente entre os fotoperíodos, para as várias concentrações de sacarose. Para o fotoperíodo de 8 e 14 horas, o número médio estimado do total de brotos aumentou de forma linear. Nesses

fotoperíodos a concentração de 60 g/L de sacarose foi a que apresentou a maior proliferação de brotos, dentro do intervalo estudado. Sendo que pelas equações verificou-se que ao usar 60 g/L de sacarose, a produção média estimada foi de 23,5 e 24,0 novos brotos para os fotoperíodos de 8 e 14 horas respectivamente.

Por outro lado, a curva de regressão do fotoperíodo de 10 horas, apresentou o ponto máximo na concentração de 44,9 g/L de sacarose e espera-se uma produção média de 17,8 brotos. Comportamento semelhante foi apresentado pelo fotoperíodo de 16 horas que atingiu o ponto máximo na concentração de 56,7 g/L de sacarose, com uma produção média estimada em 19,5 brotos (Figura 1).

Nota-se ainda que na ausência de sacarose, o número de brotos induzidos foi baixo para todos fotoperíodos estudados, com médias variando de 0,2 a 3,9 brotos, demonstrando que para o porta enxerto de macieira “MM.111” o fotoautotrofismo *in vitro* foi mal sucedido. Esse comportamento foi observado também por Langford e Wainwright (1987) e por Drew e Miller (1989), que verificaram a falta de brotações em rosas e reduções no enraizamento de mamoeiro, durante o cultivo em meio isento de sacarose.

Em relação a variável número de brotos  $\geq$  a 1,0 cm de comprimento os dados observados mostraram efeitos significativos para a sacarose, fotoperíodo e para a interação entre esses dois fatores (Quadro 1).

Pela análise de regressão, relativo a interação da sacarose com o fotoperíodo na produção de brotos  $\geq$  a 1 cm, obteve-se as curvas representadas Figura 2, onde verificou-se uma tendência de aumento de forma linear no número médio estimado de brotos  $\geq$  a 1 cm, para os fotoperíodos de 8, 10 e 14 horas a medida que aumentou-se a concentração de sacarose. Sendo que pelas equações verificou-se que ao usar a concentração 60 g/L de sacarose obteve-se a

produção média de 12,1; 8,6 e 11,8 brotos  $\geq$  a 1 cm para os fotoperíodos de 8, 10 e 14 horas respectivamente. Já Zimmerman (1983) não encontrou influência da sacarose no enraizamento de brotos de macieira, quando variou a concentração de sacarose de 15 a 60 g/L.

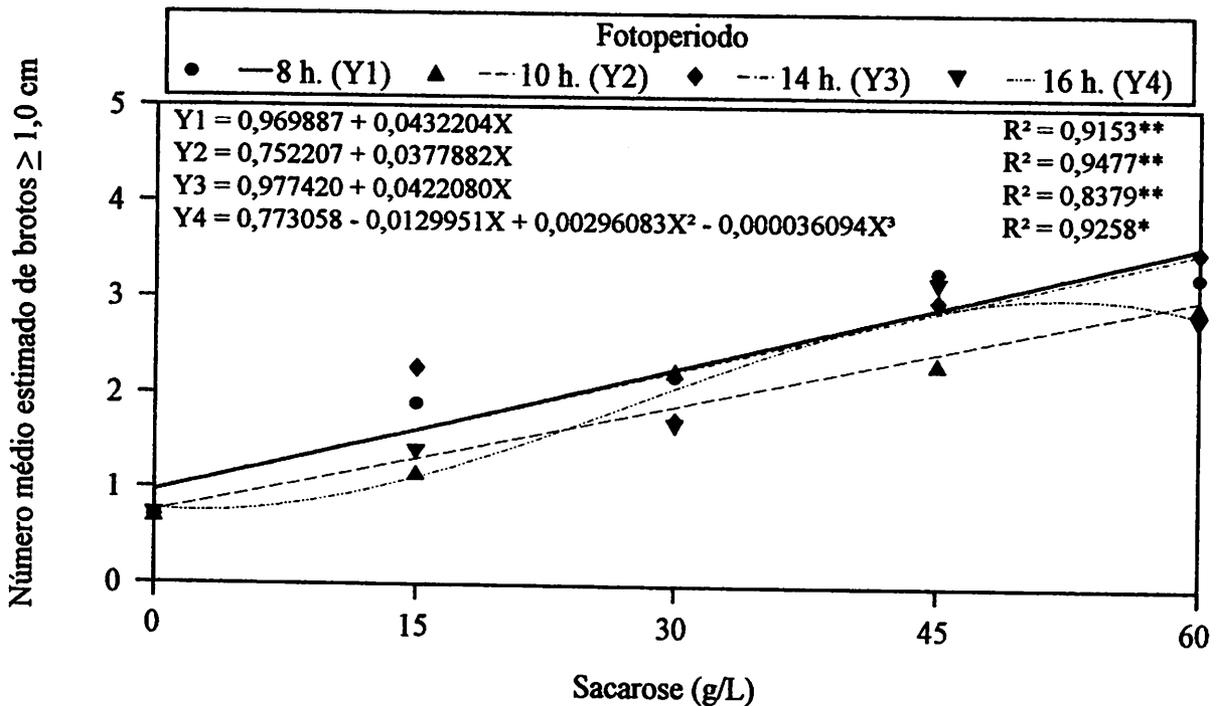


FIGURA 2. Número médio estimado de brotos  $\geq$  1,0 cm em função de diferentes concentrações de sacarose dentro de cada nível de fotoperíodo para o porta enxerto macieira “MM.111”, UFLA-Lavras-MG, 1995. Dados transformados segundo  $\sqrt{x+0,5}$ .

Para o fotoperíodo de 16 horas verificou-se pela equação cúbica de regressão (Figura 2) que a produção máxima de brotos  $\geq$  a 1,0 cm estimada em 8,6 brotos foi obtida com a concentração de 52,3 g/L de sacarose. Esta produção foi superior ao valor obtido nas condições normalmente utilizadas em macieira (30 g/L de sacarose e fotoperíodo de 16 horas) por Lane (1979) e Ochatt e Caso (1983).

Nota-se ainda, que na ausência de sacarose nos diferentes fotoperíodos testados, não ocorreu brotações maiores que 1,0 cm de comprimento. Esse resultado demonstra que a duração do período de luz, independente da sacarose, têm baixa eficiência para produção de energia metabólica, necessária para o desenvolvimento e crescimento do explante. Segundo George e Sherrington (1984), no cultivo *in vitro* devido à baixa eficiência da luz e condições limitadas de trocas gasosas ( $\text{CO}_2$ ), a habilidade fotossintética do explante fica deficiente, tornando necessária uma fonte exógena de energia e carbono.

Até o período de avaliação, que foi de 30 dias, o explante de macieira “MM.111”, apresentava-se com vigor, coloração verde e presença de calos no sistema radicular. Essa avaliação visual discorda de Zimmerman (1984), citado por Caldas, Haridasan e Ferreira (1990), onde relata que após 3 a 4 semanas em culturas, às partes aéreas de macieira começam a senescer, exibindo dormência terminal, amarelecimento e quedas de folhas.

#### **4.2 Cultivar Ébano de amora-preta**

Observa-se pelo Quadro 2, que houve efeito significativo tanto da sacarose como do fotoperíodo, sobre o número total de brotos da cultivar Ébano de amora preta, o mesmo não ocorrendo com a interação entre os dois fatores.

A equação de regressão para a produção média estimada do total de brotos, em função de diferentes concentrações de sacarose encontra-se na Figura 3. Nota-se de maneira geral, que houve uma tendência de aumento no número médio estimado do total de brotos, a medida que aumentou-se a concentração de sacarose, até a dose de 35,3 g/L, a partir da qual tendeu-se a decrescer.

QUADRO 2. Resumo da análise de variância para o número total de brotos e de brotos  $\geq 1,0$  cm de comprimento, da cv. Ébano de amora-preta, em diferentes concentrações de sacarose e fotoperíodo, UFLA-Lavras-MG, 1995.

Causa de variação	GL	Quadrados médios	
		Número total de brotos <sup>1</sup>	Número de brotos $\geq 1,0$ cm <sup>1</sup>
Fotoperíodo	3	0,998*	2,019*
Sacarose	4	2,975**	1,863**
Fotoperíodo $\times$ Sacarose	12	0,360	0,227
Resíduo	40	0,270	0,475
CV (%)		13,23	38,37

\* e \*\* Significativo a nível de 5% e 1% de probabilidade respectivamente pelo teste F

<sup>1</sup> Dados transformados segundo  $\sqrt{x+1}$

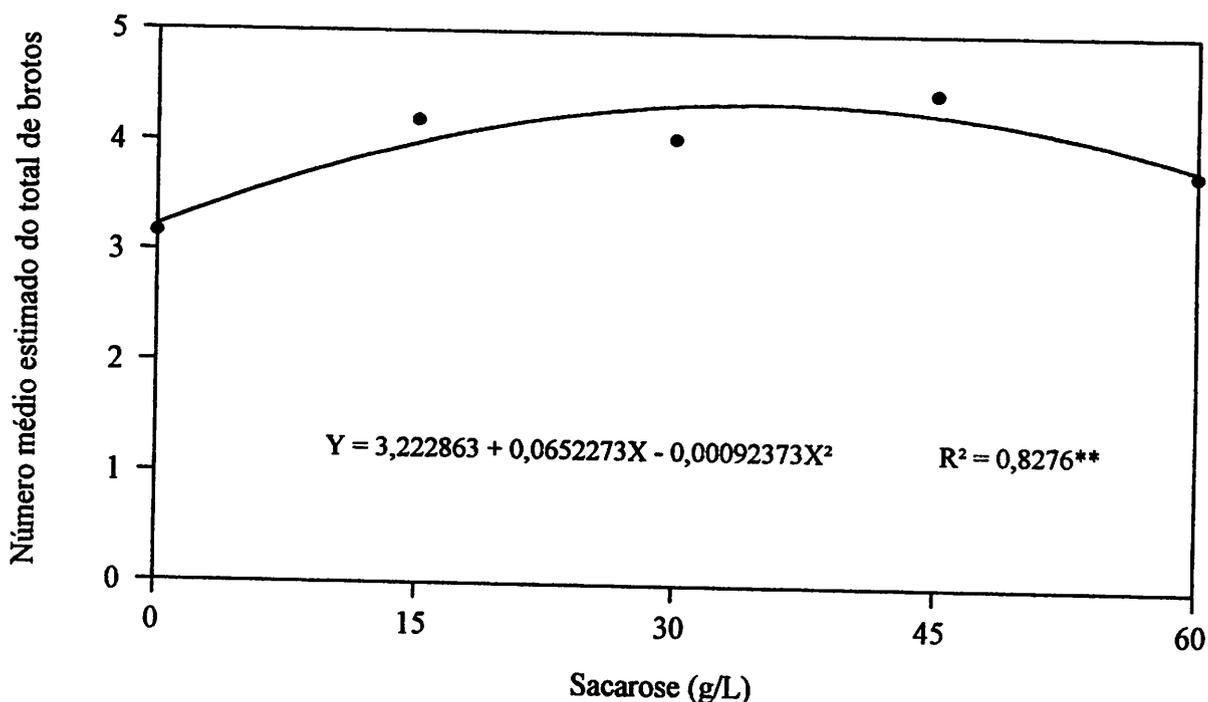


FIGURA 3. Número médio estimado do total de brotos em função de diferentes concentrações de sacarose para a amora-preta, UFLA-Lavras-MG, 1995. Dados transformados segundo  $\sqrt{x+1}$ .

Verifica-se ainda, que a equação apresentou natureza quadrática, passando pelo ponto de máxima na dose correspondente a 35,3 g/L de sacarose, onde espera uma produção média de 18,2 brotos. Esse resultado, concorda com Babic e Neskovic (1984) que registraram uma produção análoga de brotos, para as cultivares Smoothstem e Thornless em meio de cultura com a concentração de sacarose em torno de 30 g/L.

Na ausência da sacarose a produção média de 9,0 brotos (Figura 3) levou a supor que, a cultivar Ebano tenha induzido um aumento na taxa fotossintética, devido a falta de uma fonte externa de carbono, e assim produziu sua própria energia para o desenvolvimento e crescimento de novos brotos. Segundo Grattapaglia e Machado (1990); Langford e Wainwright (1987), a redução da sacarose no meio de cultura, estimula a planta a realizar a fotossíntese.

Pela análise de regressão relativa a produção média estimada do total de brotos em diferentes fotoperíodos, observou-se que a equação linear, foi a que melhor representou a variação dos dados (Figura 4). Nota-se no intervalo estudado que o fotoperíodo de 16 horas foi o que apresentou a maior proliferação média de brotos (16,3 brotos/explante). Esse resultado corrobora com Fernandez e Clark (1991) que relatam que para a cultivar 'Navaho' de amora preta, os melhores resultados na produção de brotos, foi obtido em 16 horas de fotoperíodo.

O estudo de variância, referente ao número médio estimado de brotos  $\geq 1$  cm de comprimento para a cv. Ébano de amora preta, encontra-se no Quadro 2, onde observa-se que as concentrações de sacarose e os fotoperíodos utilizados, apresentaram diferenças expressivas para a variável em questão, enquanto que a interação, não foi significativa, mostrando a independência entre os fatores.

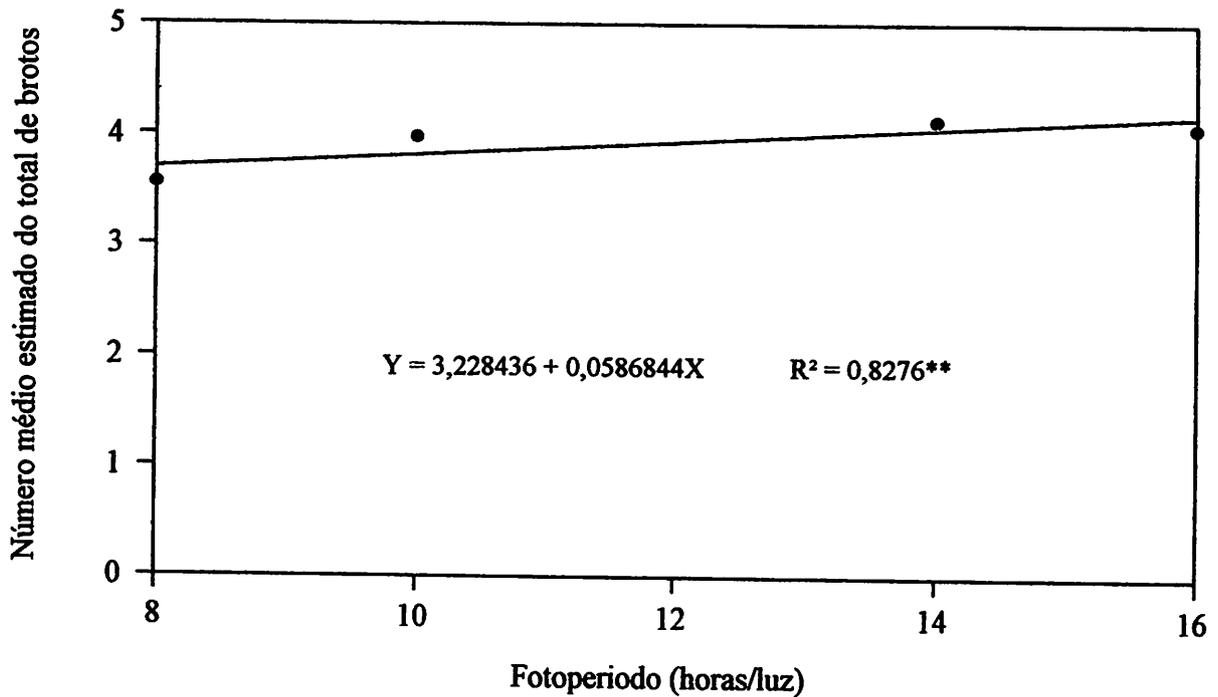


FIGURA 4. Número médio estimado do total de brotos em função de diferentes fotoperíodos para a amora-preta, UFLA-Lavras-MG, 1995. Dados transformados segundo  $\sqrt{x+1}$ .

Pela análise de regressão dos dados relativos ao número médio estimado de brotos  $\geq 1$  cm em diferentes concentrações de sacarose obteve-se a Figura 5, onde derivando a equação polinomial, encontrou-se o ponto máximo na concentração de 30 g/L para uma produção média estimada em 3,5 brotos/explante, concordando com Skirvin (1981) que obteve as melhores produções de brotos de amora preta com essa concentração.

Comparando-se os dados do número médio estimado do total de brotos e brotos  $\geq 1$  cm de comprimento (Figuras 3 e 5), verifica-se que os melhores resultados situam-se no intervalo de 30 a 38 g/L de sacarose. Dessa forma, sugere-se que o nível de carbono equilibrou-se com outros nutrientes, especialmente o nitrogênio mantendo uma relação C:N adequada, e assim proporcionou um aumento no número e tamanho dos brotos. Segundo

Gamborg (1984), de acordo com os níveis de sacarose e nitrogênio presentes no meio de cultura, os processos morfogênicos e a eficiência de alguns reguladores de crescimento podem ser afetados.

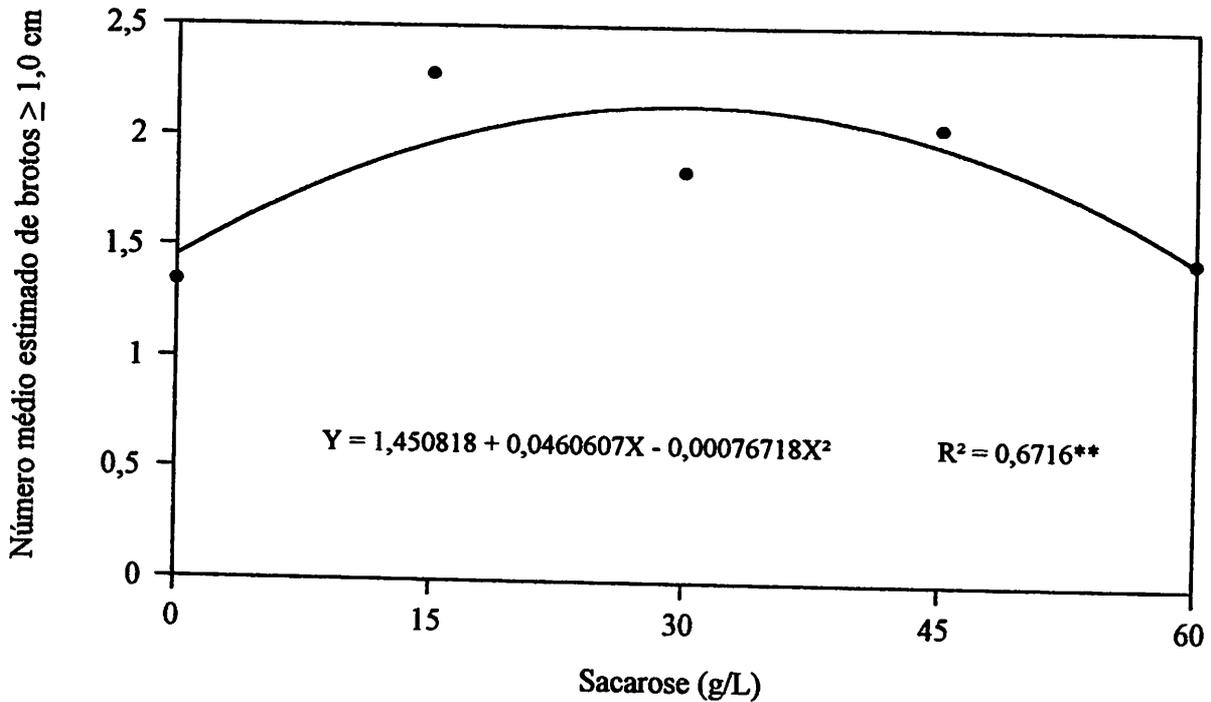


FIGURA 5. Número médio estimado de brotos  $\geq 1,0$  cm em função de diferentes concentrações de sacarose para a amora-preta, UFLA-Lavras-MG, 1995. Dados transformados segundo  $\sqrt{x+1}$ .

Verifica-se ainda uma tendência, à menores respostas para o número médio estimado do total de brotos e brotos  $\geq 1$  cm, nas concentrações de sacarose superiores a 40 g/L. Estas tendências sugerem, que os níveis mais elevados de sacarose, alterem o potencial osmótico do meio diminuindo à disponibilidade de água e provoquem distúrbios fisiológicos nas plantas, vindo à prejudicar as respostas morfogênicas dos novos brotos.

Quanto aos diferentes níveis de fotoperíodo, a análise de regressão das médias estimadas dos brotos  $\geq 1,0$  cm de comprimento demonstrou que a equação quadrática foi a que melhor representou a variação dos dados para a cultivar Ébano (Figura 6). Derivando a equação polinomial, encontrou-se o ponto máximo em 13 horas de fotoperíodo para uma produção média de 3,6 brotos.

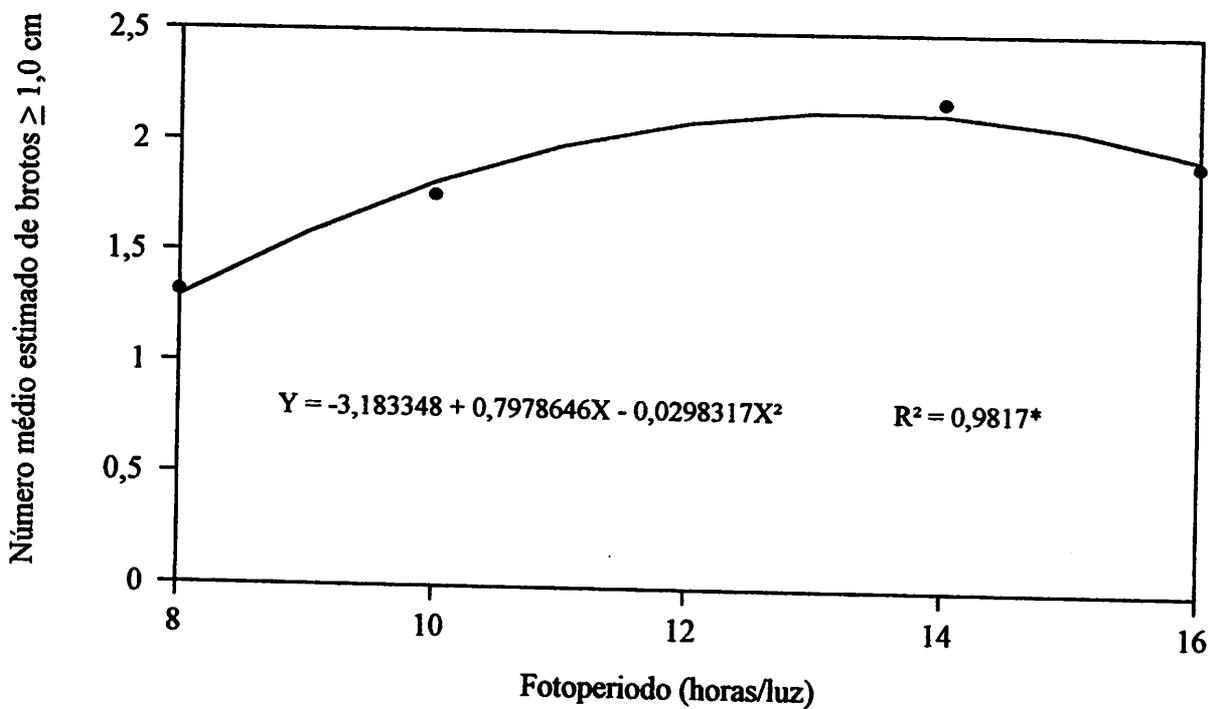


FIGURA 6. Número médio estimado de brotos  $\geq 1,0$  cm em função de diferentes fotoperíodos para a amora-preta, UFLA-Lavras-MG, 1995. Dados transformados segundo  $\sqrt{x+1}$ .

### 4.3 Porta enxerto *Pyrus calleryana* Deene

O resumo da análise de variância referente ao número médio estimado do total de brotos e número de brotos  $\geq 1,0$  cm do porta enxerto *Pyrus calleryana* Deene encontra-se no Quadro 3. Verifica-se que houve diferença significativa, somente para o fator sacarose.

QUADRO 3. Resumo da análise de variância para o número médio estimado do total de brotos e de brotos  $\geq 1,0$  cm de comprimento, do porta-enxerto *Pyrus calleryana* Deene, em diferentes concentrações de sacarose e fotoperíodos, UFLA-Lavras-MG, 1995.

Causa de variação	GL	Quadrados médios	
		Número total de brotos <sup>1</sup>	Número de brotos $\geq 1,0$ cm <sup>1</sup>
Fotoperíodo	3	0,381	0,221
Sacarose	4	4,387**	2,804**
Fotoperíodo $\times$ Sacarose	12	0,122	0,167
Resíduo	40	0,201	0,195
CV (%)		7,35	28,59

\*\* Significativo a nível de 1% de probabilidade pelo teste F

<sup>1</sup> Dados transformados segundo  $\sqrt{x + 0,5}$

Pela análise de regressão, dos dados relativos ao número médio estimado do total de brotos para as diferentes concentrações de sacarose obteve-se o gráfico Figura 7 onde observa-se que a equação linear foi a que melhor representou a variabilidade existente. A correlação positiva indica que houve proporcionalidade entre os fatores, ou seja, à medida que aumentou-se as concentrações de sacarose, houve um aumento no número médio de brotos. Dentro do intervalo estudado o melhor resultado foi obtido com 60 g/L de sacarose, com uma produção média de 10,4 brotos. Esse resultado corrobora Chow Selby e Harvey (1992) e Drell e Miller

(1985), que demonstraram a importância da sacarose no fornecimento de esqueleto de carbono e energia para a biossíntese dos compostos orgânicos necessários para o crescimento dos explantes.

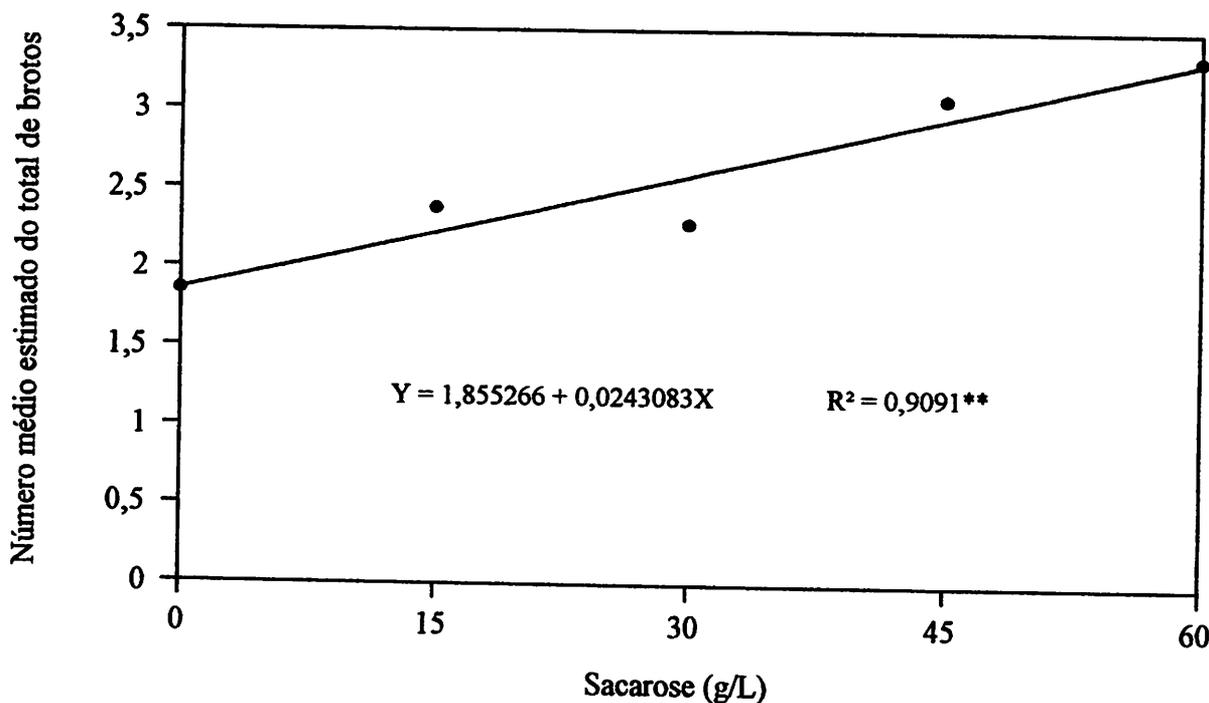


FIGURA 7. Número médio estimado do total de brotos em função de diferentes concentrações de sacarose para porta-enxerto de *Pyrus calleryana*, UFLA-Lavras-MG, 1995. Dados transformados segundo  $\sqrt{x+0,5}$ .

Nota-se também pela figura 7 que na ausência de sacarose, houve uma produção média de 2,9 brotos. Esta resposta de produção, sugere que o explante utilizou-se de suas reservas de nutrientes para induzir as novas brotações ou produziu, sua própria energia pela fotossíntese. Segundo Kozai e Iwabuchi (1991); Langford e Wainwright (1987) a taxa fotossintética foi aumentada em orquídeas e rosas, quando a concentração de sacarose no meio de crescimento foi reduzida de 5% para 1%.

Para a variável número de brotos  $\geq 1,0$  cm de comprimento a análise de regressão demonstrou que a equação cúbica, foi a que melhor representou a variação dos dados (Figura 8).

O nível de sacarose influenciou no número médio estimado de brotos  $\geq 1,0$  cm de comprimento, demonstrando uma tendência de aumento na produção média de brotos, à medida que a concentração de sacarose no meio de cultura foi aumentada. Essa importância da sacarose, também é descrita por Chow (1992), onde no cultivo de brotos de *Narcissus* a formação de bulbos foi estimulada pelo simples aumento da concentração de sacarose de 3 % para 9%.

Dentro do intervalo estudado a concentração de 60 g/L de sacarose produziu o maior número médio estimado de brotos  $\geq 1$  cm (4,3 brotos).

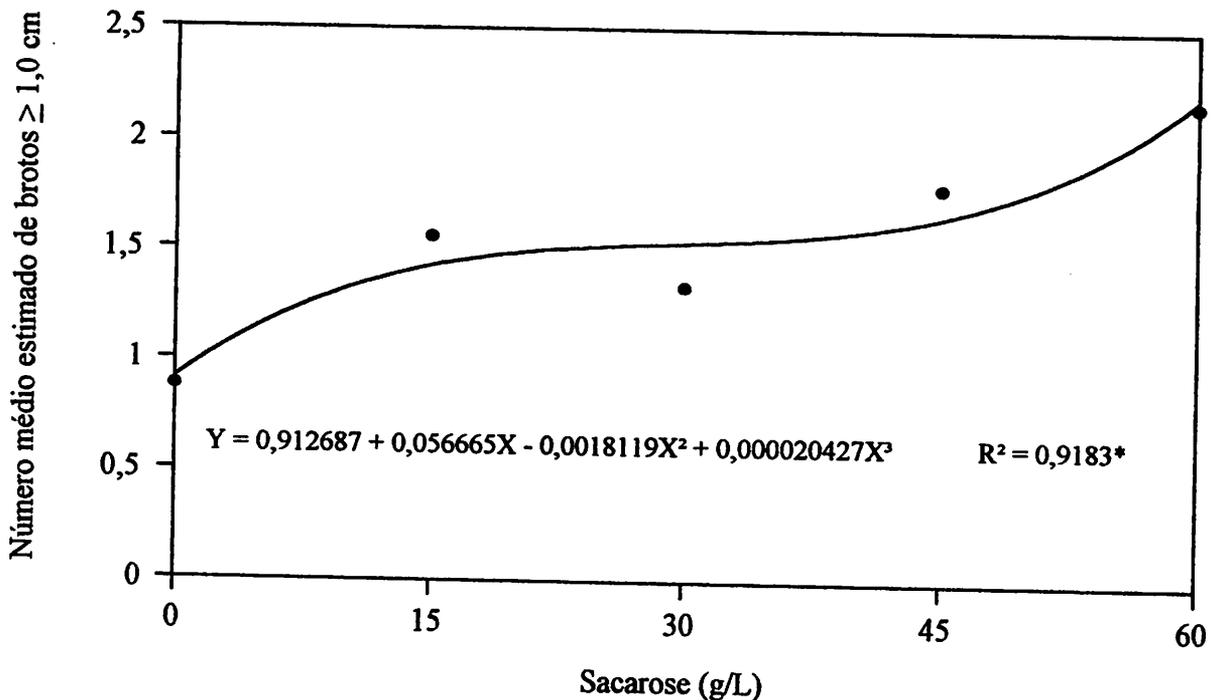


FIGURA 8. Número médio estimado de brotos  $\geq 1$  cm em função de diferentes concentrações de sacarose para porta-enxerto de *Pyrus calleryana* Deene, UFLA-Lavras-MG.1995. Dados transformados segundo  $\sqrt{x+0,5}$ .

Para as variáveis número total de brotos e número de brotos  $\geq 1$  cm, nos diferentes fotoperíodos experimentados não houve diferenças significativas na produção, discordando de Wang (1992) onde no cultivo *in vitro* de brotos de pereira (*Pyrus communis*) obteve maior número de brotos em fotoperíodo de 16 horas (9,0 brotos) do que em 8 horas de luz (4,0 brotos).

## 5 CONCLUSÕES

- As combinações entre sacarose e fotoperíodo foram eficientes no processo de multiplicação de brotos do porta-enxerto de macieira “MM.111”, sendo que 60 g/L de sacarose com fotoperíodo de 8 horas, proporcionaram os melhores resultados na produção total de brotos e no número de brotos  $\geq 1$  cm.

- O melhor tratamento para multiplicação de brotos de amora-preta foi de 35,3 g/L de sacarose e fotoperíodo de 16 horas, enquanto que para brotos  $\geq 1$  cm, a concentração de sacarose foi de 30 g/L e o fotoperíodo 13 horas.

- A sacarose influenciou na multiplicação de brotos do porta-enxerto *Pyrus calleryana* Deene. A concentração de 60 g/L, de sacarose promoveu o maior número total de brotos e brotos  $\geq 1$  cm. O fotoperíodo não influenciou no número de brotos, no intervalo estudado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, A.J.; WHITELEY, E. Culture of *Malus* tissues *in vitro* I. Multiplication of apple plants from isolated shoot apices. **Scientiae Horticulturae**, Amsterdam, v.4, n2, p.183-189, 1976.
- AUSTIN, S.; CASSELLS, A.C. Variation between plants regenerated from individual calli produced from separated potato stem callus cells. **Plant Science Letters**, Limerick, v.31, p.107-114, 1982.
- BABIC, V.; NESKOVIC, M. Propagation of three blackberry cultivars from small apical buds *in vitro*. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.59, n.2, p.183-185, 1984.
- BARALDI, R.; ROSSI, F.; LERCARI, B. *In vitro* shoot development of *Prunus* GF655-2: interation between light and benzyladenine. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.74, p.440-443, 1988.
- BASSOLS, M.C.; MOORE, J.N. Ébano thornless blackberry. **HortScience**, Alexandria, v.16, n.5, p.686-687, 1981.
- BROOME, O.C.; ZIMMERMAN, R.H. *In vitro* propagation of blackberry. **HortScience**, Alexandria, v.13, n.2, p.151-153, 1978.
- CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. (eds). **Técnicas e Aplicações da Cultura de Tecidos de Plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA, 1990. p.37-70.
- CHONG, C.; PUA, E.C. Carbon nutrition of ottawa 3 apple rootstock during stages of *in vitro* propagation. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.60, n.3, p.285-290, 1985.
- CHONG, C.; TAPER, C.D. Daily variation of sorbitol and related carbohydrates in *Malus* leaves. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.49, p.173-177, 1971.
- CHOW, Y.N.; SELBY, C.; HARVEY, B.M.R. Stimulation by sucrose of *Narcissus* bulb formation *in vitro*. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.67, n.2, p.289-293, 1992.

- COFFIN, R.; TAPER, C.D.; CHONG, C. Sorbitol and sucrose as carbon source for callus culture of some species of the Rosaceae. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.54, n.7, p.547-551, 1976.
- DENARDI, F. Porta enxertos. In: Empresa Catarinense de Pesquisa Agropecuária. **Manual da cultura da macieira**. Florianópolis, 1986. 562p.
- DO, C.B.; CORMIER, F. Accumulation of peonidin 3 glucoside enhanced by osmotic stress in grape (*Vitis vinifera* L.) cell suspension. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, The Hague, v.24, n.1, p.49-51, 1991.
- DREW, R.A.; MILLER, R.M. Nutritional and cultural factors affecting rooting of papaya (*Carica papaya* L.) *in vitro*. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.64, n.4, p.767-773, 1989.
- ECONOMOU, A.; READ, P.E. Light treatments to improve efficiency of *in vitro* propagations systems. **HortScience**, Alexandria, v.22, n.5, p.751, 1987.
- FASOLO, F.; ZIMMERMAN, R.H.; FORDHAM, I. Adventitious shoot formation on excised leaves of *in vitro* grown shoots of apple cultivars. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, The Hague, v.16, p.75-87, 1989.
- FERNANDEZ, G.E.; CLARK, J.R. *In vitro* propagation of the erect thornless 'Navaho' blackberry. **HortScience**, Alexandria, v.26, n.9, p.1219, 1991.
- GAMBORG, O.L. Plant cell culture: Nutrition and media In: VASIL, I.K. (ed). **Cell Culture Genetics of Plant**. New York: Academic Press, 1984. v.1, p.18-26.
- GAMBORG, O.L.; SHYLUCK, J.P. Nutrition, media and characteristics of plant cell and tissue cultures. In: THORPE, T.O. **Plant Tissue Culture Methods and Applications in agriculture**. New York: Academic Press, 1981. p.21-44.
- GEORGE, E.F.; SHERRINGTON, P.D. **Plant propagation by tissue culture**. Eversley, Exegetics. LTD. 1984. p.32.
- GONÇALVES, A.N. **Reversão à juvenilidade e clonagem de *Eucalyptus urophylla*, ST. Blake *in vitro***. Piracicaba: ESALQ. 1982. 97p. (Dissertação-Doutorado em Fitotecnia)
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. (eds). **Técnicas e Aplicações da Cultura de Tecidos de Plantas**. Brasília: ABCTP/ EMBRAPA, 1990. p.99-169.
- GROUT, B.W.W.; MILLAM, S. Photosynthetic development of micropropagated strawberry plantlets following transplanting. **Annals of Botany**, New York, v.55, p.129-131, 1985.

- HASEGAWA, P.M. Factors affecting shoot and root initiation from cultured Rose shoot tips. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Mount, v.105, p.216-220, 1980.
- HOWARD, B.H.; JONES, O.P.; VASEK, J. Long-term improvement in the rooting of plum cutting following apparent rejuvenation. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.64, p.147-156, 1989.
- JONES, O.P.; HOPGOOD, M.E.; O'FARREL, D. Propagation *in vitro* of M-26 apple rootstocks. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.52, n.2, p.235-238, 1977.
- JONES, O.P.; WEBSTER, C.A. Nursery performance of 'cox' apple trees with rootstocks of M.9 from either micropropagation or improved conventional propagation from micropropagated plants. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.68, n.5, p.763-766, 1993.
- KORBAN, S.S.; CONNOR, P.A.; ELOBEIDY, A. Effects of Thidiazuron, Naphthaleneacetic acid, dark incubation and genotype on shoot organogenesis from *Malus* leaves. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.67, n.3, p.341-349, 1992.
- KOZAI, T.; IWABUCHI, K. Photoautotrophic an photomixotrophic growth of strawberry plantlets *in vitro* and changes in nutrient composition of the medium. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, The Hague, v.25, p.107-115, 1991.
- LANE, W.D. Regeneration of pear plants from shoot meristem tips. **Plant Science Letters**, Limerick, v.16, p.337-342, 1979.
- LANGFORD, P.J.; WAINWRIGHT, H. Effects of sucrose concentration on the photosynthetic ability of Rose shoots *in vitro*. **Annals of Botany**, New York, v.60, p.633-640, 1987.
- LÊ, C.L. Influence of temperature on *in vitro* root initiation and development of apple rootstock 'M-26'. **HortScience**, Alexandria, v.20, n.3, p.451-452, 1985.
- LUNDERGAN, C.A.; JANICK, J. Regulation apple shoot proliferation and growth *in vitro*. **Horticultural Research**, Edinburgh, v.20, p.19-24, 1980.
- MOORE, J.N. Blackberry breeding. **HortScience**, Alexandria, v.19, n.1, p.183-197, 1984.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for growth and tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, n.3, p.473-479, 1962.
- NOGUEIRA, D.J.P. Os porta enxertos na fruticultura de clima temperado. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.11, n.125, p.25-30, 1985.
- OCHATT, S.J.; CASO, O.M. *In vitro* meristem of 'M4' apple (*Malus pumila* Mill). I. Optimal nutrient medium. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, The Hague, v.2, p.39-48, 1983.

- OLIVEIRA, P.D. Propagação *in vitro* de Crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) cv. Orange Reagen. Lavras: ESAL, 1994. 116p. (Dissertação-Mestrado em Fitotecnia).
- OTONI, W.C. Estudos da propagação *in vitro* de *Citrus sinensis* L. Osb. cv. Pêra a partir de cultura de segmentos nodais juvenis. Viçosa: UFV, 1988. 108p. (Dissertação-Mestrado em Fitotecnia).
- PAWLICKI, N.; WELANDER, M. Adventitious shoot regeneration from leaf segments of *in vitro* cultured shoots of the apple rootstock Jork-9. *Journal of Horticultural Science*, Ashford, v.69, n.4, p.687-696, 1994.
- PENTEADO, S.R. Fruticultura de clima temperado em São Paulo. Campinas: Fundação Cargill, 1986. 173p.
- PUA, E.C.; CHONG, C. Requirement for sorbitol (D. glucitol) as carbon source for *in vitro* propagation of *Malus robusta*. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v.62, p.1545-1549, 1984.
- PUA, E.C.; CHONG, C.; ROUSELLE, G.L. *In vitro* propagation of ottawa 3 apple rootstock. *Canadian Journal of Plant Science*, Ottawa, v.36, n.1, p.183-188, 1983.
- RODRIGUES, B.M. Micropropagação e bulbificação *in vitro* de cebola (*Allium cepa* L.) Lavras: ESAL, 1994. 109p. (Dissertação-Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)
- RODRIGUEZ, R.; DIAZ-SALA, C. Pear *in vitro* propagation using a double-phase culture system. *HortScience*, Alexandria, v.26, n.1, p.62-64, 1991.
- SAWYER, H.; HSIAO, K.C. Effects of autoclave induced carbohydrate hydrolysis on the growth of *Beta vulgaris* cells in suspension. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, The Hague, v.31, n.1, p.81-87, 1992.
- SCHMILDT, E.R. Enraizamento *In vitro* e *Ex vitro* de ramos de mamoeiro (*Carica papaya* L.). Viçosa: UFV, 1994. 82p. (Dissertação-Mestrado em Fitotecnia).
- SHEN, X.S.; MULLINS, M.G. Propagation *in vitro* of pear, *Pyrus communis* L. cultivar 'William's' Bon Chretien, Packham's Triumph. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v.23, p.51-57, 1984.
- SKIRVIN, R.M.; CHU, M.C.; GOMEZ, E. *In vitro* propagation of thornless trailing blackberries. *HortScience*, Alexandria, v.16, p.310-312, 1981.
- SKOOG, F.; MILLER, C.O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*. *Symposia Society Experimental Biology*, Cambridge, v.11, p.118-131, 1957.

- SMITH, M.A.L.; PALTA, J.P.; MCCOWN, B.H. Comparative anatomy and physiology of micro cultured, seedling and greenhouse grown Asian White binch. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Mount, v.111, p.437-442, 1986.
- SNIR, I.; EREZ, A. *In vitro* propagation of malling merton apple rootstocks. **HortScience**, Alexandria, v.15, n.5, p.597-598, 1980.
- SRISKANDARAJAH, S.; MULLINS, M.G. Induction of adventitious rooting *in vitro* in difficult to propagate cultivars of apple. **Plant Science Letters**, Limerick, v.24, p.1-9, 1982.
- SRISKANDARAJAH, S.; MULLINS, M.G. Micropropagation of Granny smith apple factors affecting root formation *in vitro*. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.56, n.1, p.71-76, 1981.
- STIMART, D.P.; HARBAGE, J.F. *In vitro* shoot proliferation of *Pyrus calleryana* from vegetative buds. **HortScience**, Alexandria, v.24, n.2, p.298-299, 1989.
- THOMPSON, M.R.; THORPE, T.A. Metabolic and non-metabolic roles carbohydrates In: BONGA, J.M.; DURZAN, D.J. (eds). **Cell and Tissue Culture in Forestry**. Dordrecht, 1987. p.35-37.
- VINCE, D. Photomorphogenesis in plant stems. **Biological Reviews Cambridge**, v.39, p.506-536, 1964.
- WANG, Q. The effect of light, darkness and temperature on micropropagation of the pear rootstock BP 10030. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.67, n.6, p.859-876, 1992.
- WEBSTER, C.A.; JONES, O.P. Micropropagation of the apple rootstock M.9: effect of sustained subculture on apparent rejuvenation *in vitro*. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.64, n.4, p.421-428, 1989.
- WELANDER, M. Plant regeneration from leaf and stem segments of shoots raised *in vitro* from mature apple trees. **Journal of Plant Physiology**, Australian, v.132, n.6, p.738-744, 1988.
- WELANDER, M.; WELANDER, N.T.; BRACKMAN, A. Regulation of *in vitro* shoot multiplication in *Syringa*, *Alnus* and *Malus* by different carbon sources. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.64, n.3, p.361-366. 1989.
- YAE, B.W.; ZIMMERMAN, R.H.; FORDHAM, I. Influence of photoperiod, apical meristem, and explant orientation on axillary shoot proliferation of apple cultivars *in vitro*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Mount, v.112, n.3, p.588-592, 1987.
- ZIMMERMAN, R.H. Factors affecting *in vitro* propagation of apple cultivars. **Acta Horticulturae**, v.131, p.171-178, 1983.

