

Propagação de videira *in vitro*: produção de plantas matrizes básicas de porta-enxertos

Aparecido Lima da Silva⁽¹⁾; Enio Schuck⁽²⁾; Robison Borges⁽³⁾;
Flávia Maia Moreira⁽⁴⁾; Marcelo Borghezán⁽⁵⁾; Liziane Kadine Antunes de Moraes⁽⁶⁾;
Célio Air Mikulski⁽⁷⁾ e Carolina Quiumento Velloso⁽⁸⁾

Resumo – As técnicas de cultura *in vitro* apresentam um grande potencial para a produção de plantas matrizes e mudas de alta qualidade genética e sanidade comprovada. O objetivo deste trabalho foi estabelecer porta-enxertos de videira *in vitro*, avaliar os parâmetros morfológicos fundamentais à micropropagação e multiplicar plantas matrizes básicas. Os porta-enxertos ‘Paulsen 1103’, ‘VR043-43’ e ‘Gravesac’ foram introduzidos e multiplicados *in vitro* pelo método de gemas axilares em meio de cultura DSD1. A taxa de estabelecimento *in vitro* foi de 65%, e nas condições de cultura *in vitro* o crescimento, a área foliar e o peso seco foram diferentes entre genótipos. O porta-enxerto ‘Paulsen 1103’ foi superior em número de folhas, comprimento de raízes, área foliar e produção de biomassa, e o ‘Gravesac’, em comprimento de caule e número de raízes. A taxa média de sobrevivência de plantas na aclimatização foi 95%. Os porta-enxertos de videira avaliados apresentaram características morfológicas apropriadas para a micropropagação e aclimatização.

Termos para indexação: *Vitis*, micropropagação, mudas certificadas.

In vitro vine propagation: production of basic plants for rootstocks

Abstract – Techniques *in vitro* are useful in order to generate basic material with high genetic quality and adequate sanitary standards. The present study aimed at the *in vitro* production of vine rootstocks to evaluate morphological parameters during micropropagation. Axillary buds of ‘Paulsen 1103’, ‘VR043-43’ and ‘Gravesac’ rootstocks were inoculated on DSD1 culture medium. The rate of responsive cultures was 65% and in *in vitro* condition the leaf area and the dry weight were different among the genotypes, being the rootstock ‘Paulsen 1103’ the best one in terms of number of leaves, length of roots, leaf area and biomass yield. ‘Gravesac’ presented the best results for stem length and root number. The rate of survival in the acclimatization was 95%. The evaluated rootstocks showed adequate morphologic features for micropropagation and acclimatization.

Index terms: *Vitis*, micropropagation, certified plant stock.

⁽¹⁾Eng. agr., prof., Dr., Departamento de Fitotecnia, CCA/UFSC, C.P. 476, 88040-900 Florianópolis, SC, e-mail: alimadasilva@pop.com.br.

⁽²⁾Eng. agr., Epagri/Estação Experimental de Videira, C.P. 21, 89560-000 Videira, SC, fone/fax: (049) 566-0054, e-mail: schuck@epagri.rct-sc.br.

⁽³⁾Eng. agr., Cidasc/Gerência Estadual de Defesa Vegetal, C.P. 256, 88034-001 Florianópolis, SC, fone: (048) 239-6536, e-mail: robison@cidasc.sc.gov.br.

⁽⁴⁾Bióloga, bolsista do CNPq, doutoranda no Instituto San Michele all’Adige (Trento-Itália), Via E. mach 38010, S. Michele all’Adige, Trento, Itália.

⁽⁵⁾Eng. agr., prof., Departamento de Fitotecnia, CCA/UFSC, C.P. 476, 88040-900 Florianópolis, SC, fone: (048) 331-5324, fax: (048) 331-5335, e-mail: mborghezán@hotmail.com.

⁽⁶⁾Eng. agr., mestrandia em Recursos Genéticos Vegetais, CCA/UFSC, C.P. 476, 88040-900 Florianópolis, SC.

⁽⁷⁾Acadêmico de Agronomia, bolsista UFSC/DAEX, C.P. 476, 88040-900 Florianópolis, SC.

⁽⁸⁾Acadêmica de Agronomia, bolsista UFSC/DAEX.

Introdução

A vitivinicultura é uma atividade de grande importância socioeconômica para os Estados do Sul. A área ocupada pela videira no Brasil é superior a 63.800ha. Destes, 3.433ha pertencem ao Estado de Santa Catarina, em regiões de aspectos socioeconômico-culturais de descendência italiana, com uma estrutura fundiária de pequenas propriedades e agricultura familiar. Porém, a produção estadual ainda é insuficiente para suprir a demanda, e grande parte da uva consumida vem do Rio Grande do Sul (Epagri, 2002; Protas et al., 2002).

Na década de 90, ocorreu uma queda acentuada na produtividade dos vinhedos e redução da área plantada em Santa Catarina. Além das viroses, as principais causas foram a fusariose, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* Sch. f. sp. *herbemontis*, a cochonilha *Eurhizococcus brasiliensis*, conhecida como margarodes ou pérola-da-terra, e a falta de porta-enxertos adaptados às condições de elevada acidez e alta saturação de alumínio dos solos. Na busca da resolução dos problemas mencionados, a utilização de genótipos resistentes poderá ser uma alternativa eficiente e economicamente viável para o setor vitivinícola catarinense (Schuck et al., 1993).

O aumento no consumo de vinhos tintos de qualidade e a forte demanda de matéria-prima (uva para vinhos e sucos) têm impulsionado a viticultura catarinense, tornando-se um mercado altamente atrativo. Iniciaram-se novos plantios, necessitando, portanto, de uma grande quantidade de mudas certificadas (Protas et al., 2002; Silva, 2002).

No entanto, a baixa disponibilidade de plantas matrizes e mudas de qualidade genética e sanitária (livres de viroses) em grande quantidade para a aquisição imediata é um fator que tem dificultado aos produtores a

implantação de novos vinhedos, ou mesmo a renovação dos já existentes (Silva, 2002).

Para solucionar as dificuldades de multiplicação de plantas matrizes e produção de mudas certificadas, torna-se necessário o uso de novas metodologias de propagação de plantas.

Assim, a biotecnologia, através da cultura de tecidos vegetais, pode oferecer inúmeras vantagens quando comparada aos métodos clássicos de multiplicação da videira em larga escala. Dentre essas vantagens, destacam-se a alta taxa de multiplicação, a produção de plantas uniformes e isentas de patógenos, propagadas em curto espaço de tempo, em espaço físico reduzido e durante todo o ano (Biasi et al., 1998; Moreira, 2000 e Torregrosa & Bouquet, 1995).

O objetivo deste trabalho foi avaliar os parâmetros morfológicos importantes à micropropagação de porta-enxertos de videira, visando a produção de plantas matrizes básicas de qualidade genética e sanitária comprovada.

Metodologia

Os experimentos foram realizados no Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias – CCA – da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC –, no período de maio a agosto de 2002.

Foram selecionados os porta-enxertos ‘Paulsen 1103’ (*Vitis berlandieri* x *V. rupestris*) resistente à fusariose, sendo atualmente o mais importante para a viticultura do Sul do Brasil, ‘VR043-43’ (*V. vinifera* x *V. rotundifolia*) resistente à fusariose e tolerante à margarodes, ambos recomendados oficialmente pela Epagri, e ‘Gravesac’ [161-49 (*V. riparia* x *V. berlandieri*) X 3309 (*V. riparia* x *V. rupestris*)] selecionado por apresentar tolerância a solos ácidos.

As plantas matrizes básicas foram mantidas em casa de vegetação, sob controle de nutrição e sani-

dade (Figura 1 A), sendo avaliadas pelo teste sorológico Elisa (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) para as seis principais viroses da videira, definidas no protocolo do sistema estadual de certificação de mudas.

A partir dessas plantas, foram retiradas gemas axilares que passaram por um processo de assepsia (álcool etílico 70% e hipoclorito de sódio 1,5%) para introdução e multiplicação *in vitro* em meio de cultura DSD1 (Silva & Doazan, 1995), sem uso de reguladores de crescimento. As culturas foram mantidas em sala de crescimento, sob condições controladas de temperatura ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$), fotoperíodo (16 horas de luz), intensidade luminosa ($45\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) e umidade relativa (60% a 70%).

As avaliações das culturas *in vitro* foram realizadas aos 60 dias de cultivo e os parâmetros avaliados foram: número de folhas e de raízes e comprimento do caule e de raízes, que foram medidos com um paquímetro manual. Na análise da área foliar, as folhas foram escaneadas e as imagens foram avaliadas com o auxílio do software IDRISI Versão 2.0. A determinação da biomassa seca foi feita pela pesagem das partes das plantas que permaneceram em estufa por 48 horas a 70°C .

No processo de aclimatização, as plantas procedentes da cultura de tecidos foram podadas, conservando-se três a quatro folhas basais e raízes com 2 ou 3cm de comprimento. O plantio foi feito em bandejas de isopor contendo o substrato Plantmax®, que foram colocadas em caixas plásticas e cobertas com vidro (atmosfera saturada), sendo transferidas para sala de aclimatização, onde permaneceram por 30 dias. Cada unidade experimental foi constituída de 20 plantas e cinco repetições e o delineamento experimental foi completamente casualizado. Dados de porcentagem de sobrevivência foram coletados aos 30 dias de cultivo *ex vitro*.

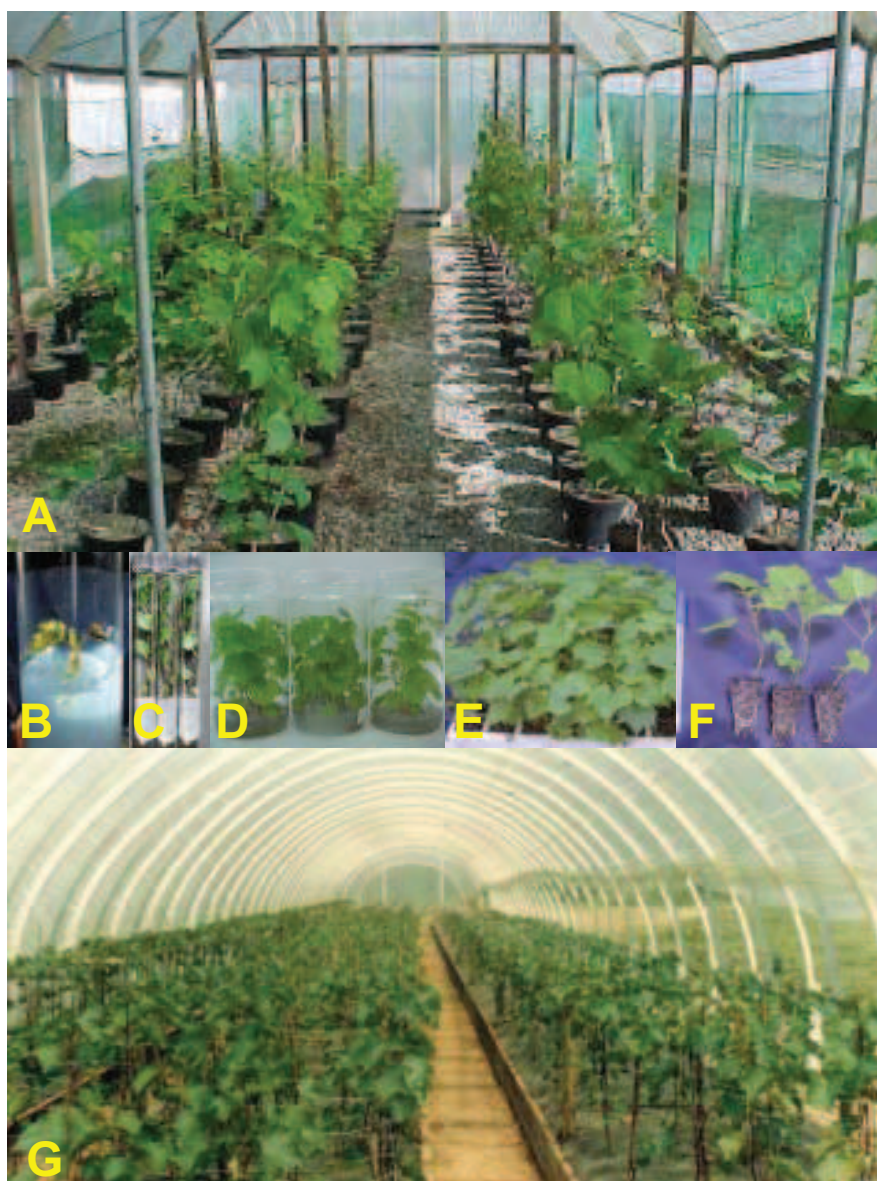


Figura 1. (A) Plantas matrizes básicas de porta-enxertos de videira (UFSC), (B, C e D) multiplicação *in vitro* de porta-enxertos de videira, (E e F) plantas aclimatizadas do porta-enxerto 'Paulsen 1103', (G) plantas matrizes de 'Paulsen 1103' de cultura *in vitro* (Rodeio, SC)

Resultados e discussão

Observou-se que a porcentagem média de sobrevivência dos explantes introduzidos *in vitro* foi de 65% para os três genótipos testados. O melhor resultado de sobrevivência *in vitro* foi verificado para o porta-enxerto 'Paulsen 1103' (73%), seguido por 'Gravesac' (69%)

e 'VR043-43' (53%) (dados não mostrados). As taxas de indução de gemas, observadas neste trabalho, podem ser consideradas boas quando comparadas a outros métodos para a introdução *in vitro* de videira (Biasi et al., 1998; Moreira, 2000).

As plantas, após 60 dias de cultura *in vitro*, apresentaram um padrão ideal de crescimento da par-

te aérea e do sistema radicular (Figura 1 B, C e D). Os resultados das características morfológicas avaliadas são apresentados na Tabela 1. Observaram-se diferenças de crescimento entre os três genótipos. O porta-enxerto 'Paulsen 1103' demonstrou superioridade para a maioria dos parâmetros avaliados.

O maior número de folhas por planta foi obtido com o 'Paulsen 1103' (7,3) diferindo significativamente dos porta-enxertos 'VR043-43' e 'Gravesac' (Tabela 1). O número de raízes por planta variou de 1,3 a 2,3 com superioridade para o porta-enxerto 'Gravesac'. Estas características morfológicas também foram avaliadas por outros pesquisadores em cinco híbridos de *Vitis vinifera* cruzada com *Vitis rotundifolia* (Torregrosa & Bouquet, 1995), na seleção *in vitro* dos porta-enxertos Gravesac e Fercal (Silva & Doazan, 1995) e na multiplicação de porta-enxertos de videira Jales (Biasi, 1998). Para estes autores, os resultados observados estão sempre relacionados ao genótipo testado e à composição do meio de cultura.

Em relação ao comprimento do caule, o porta-enxerto 'Gravesac' apresentou um crescimento *in vitro* de 11,7cm de altura, diferindo do 'Paulsen 1103' e do 'VR043-43', os quais apresentaram um comprimento de caule de 6,5 e 3,1cm, respectivamente. A variedade 'Paulsen 1103' apresentou o maior crescimento radicular (9,8cm). As condições *in vitro*, principalmente o meio de cultura, apresentam efeitos positivos sobre o crescimento e enraizamento de videira (Roubelakis-Angelakis & Zivanovitch, 1991). Os resultados para os comprimentos de caule e raízes, observados neste trabalho, são superiores aos genótipos de porta-enxertos de videira avaliados na propagação *in vitro* por Roubelakis-Angelakis & Zivanovitch (1991) e Biasi et al. (1998). Esta superioridade observada possivelmente está relacionada ao meio de cultura

DSD1 que foi desenvolvido para a seleção *in vitro* de porta-enxertos (Silva & Doazan, 1995).

A maior área foliar foi observada com o porta-enxerto ‘Paulsen 1103’ (14cm²), tendo diferido significativamente do ‘Gravesac’. A área foliar, possivelmente, afetou de forma positiva os demais parâmetros de crescimento (Tabela 1). Os resultados observados são similares aos obtidos na propagação *in vitro* dos porta-enxertos ‘Paulsen 1103’ e ‘VR043-43’ (Moreira, 2000) e inferiores aos observados para o ‘Gravesac’ (Silva & Doazan, 1995). Para estes autores existe uma alta correlação entre a superfície foliar e a produção de biomassa total, destacando a importância deste parâmetro na fotossíntese da videira *in vitro*.

Quanto à produção de biomassa das plantas *in vitro*, observou-se que o ‘Paulsen 1103’ apresentou o acúmulo de matéria seca (33mg) significativamente maior em relação ao ‘Gravesac’ (24mg) e ‘VR043-43’ (22mg). A produção de biomassa total também foi um parâmetro de avaliação de crescimento para diferentes porta-enxertos de videira *in vitro* (Moreira, 2000 e Schuck et al., 1993). Estes autores observaram que a produção de biomassa total é o parâmetro mais confiável para avaliar o crescimento, a alocação de carbono e a propagação de plantas *in vitro*.

Os resultados observados na fase de aclimatização para as três

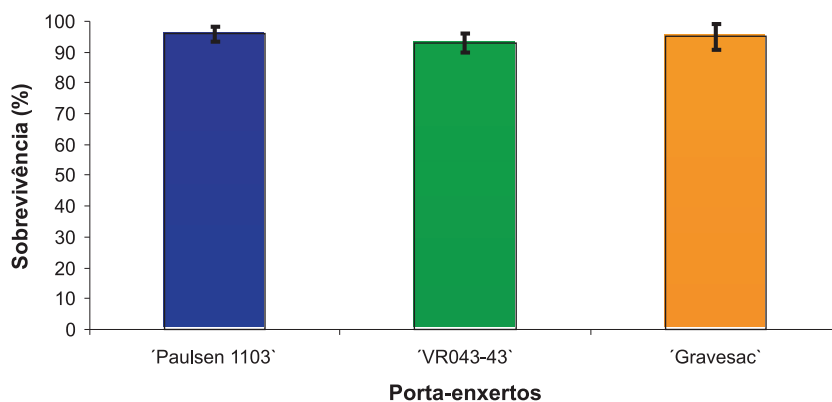


Figura 2. Taxa de sobrevivência de porta-enxertos de videira ao processo de aclimatização. UFSC, Florianópolis, SC

variedades de porta-enxertos são apresentados na Figura 2. O porta-enxerto ‘Paulsen 1103’ apresentou taxa de 96% de sobrevivência na aclimatização, não diferindo dos porta-enxertos ‘Gravesac’ (95%) e ‘VR043-43’ (93%).

Os resultados de 93% a 96% de plantas sobreviventes no processo de aclimatização, como mostra a Figura 1 E e F, indicam que o método utilizado foi apropriado para a transferência de videira *in vitro* para as condições *ex vitro* (Biasi, 1998 e Moreira, 2000).

Esta alta taxa de sobrevivência observada na aclimatização de porta-enxertos de videira pode estar relacionada, além de com o mecanismo fotossintético, com um eficiente controle de perda de água, acúmulo adequado de biomassa e

de reservas e controle fisiológico adaptado às condições *in vitro* (Moreira, 2000 e Schuck et al., 1993).

As plantas micropropagadas e aclimatizadas do porta-enxerto ‘Paulsen 1103’ foram transferidas para a Vinícola San Michele, em Rodeio, SC, sendo mantidas e multiplicadas em túnel plástico (Figura 1 G) como plantas matrizes básicas de alto valor genético e sanitário para a produção de mudas certificadas de videira, conforme a norma estadual, sob o controle da Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina – Cidasc.

Esses resultados demonstram que a micropropagação é uma técnica viável para a produção de plantas matrizes básicas de videira de qualidade genética e sanitária comprovada.

Conclusões

- A micropropagação de porta-enxertos de videira pode ser realizada a partir de gemas axilares em meio de cultura DSD1.
- A avaliação dos diferentes parâmetros morfológicos em porta-enxertos de videira *in vitro* demonstra que a variabilidade genotípica se manifesta no crescimento, enraizamento e na distribuição da biomassa.

Tabela 1. Características morfológicas de porta-enxertos de videira avaliados aos 60 dias de cultura *in vitro*. UFSC, Florianópolis, SC

Porta-enxerto ⁽¹⁾	Folhas	Raízes	Comprimento		Área foliar	Peso seco total
			Caule	Raízes		
Nº.....	cm.....	cm ²mg.....
‘Paulsen 1103’	7,3±0,5a	1,3±0,5b	6,5±0,6b	9,8±1,9a	14,0±1,7a	33±5,0a
‘VR043-43’	5,9±0,7b	1,6±0,6ab	3,1±0,6c	5,8±1,6b	12,7±1,0ab	22±2,0b
‘Gravesac’	6,7±0,5b	2,3±0,8a	11,7±1,0a	5,6±0,2b	11,1±2,3b	24±5,0b

⁽¹⁾Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste Student-Newman-Keuls (SNK) a 5% de probabilidade; os valores das variáveis são apresentados como média ± desvio-padrão.

- O método usado na aclimação de videira *in vitro* é eficaz, proporcionando 95% de plantas sobreviventes.

- A micropropagação é uma técnica eficiente para multiplicar plantas matrizes básicas e certificadas de videira.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Sebrae e à Província Autônoma di Trento (Itália), via Associazione Trentini nel Mondo, pelo apoio técnico e financeiro para a realização deste trabalho.

Literatura citada

1. BIASI, L.A.; PASSOS, I.R.S.; POMMER, C.V. Micropropagação do porta-enxerto de videira Jales. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.33, n.10, p.1587-1594, out.1998.
2. EPAGRI (Videira, SC). *Frutas de clima*

temperado: situação da safra 2000/2001, previsão da safra 2002/2003. Videira, 2002. 18p.

3. MOREIRA, F.M. *Avaliação morfo-fisiológica e bioquímica do porta-enxerto de videira 'Paulsen 1103' in vitro*. 2000. 91f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
4. PROTAS, J.F. de S.; CAMARGO, U.A.; MELO, L.M.R. de. A viticultura brasileira: realidade e perspectivas. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 2002, Caldas, MG. *Viticultura e Enologia: atualizando conceitos*. Caldas: Epamig, 2002, p.17-32.
5. ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K.A.; ZIVANOVITC, S.B. A new culture medium for *in vitro* rhizogenesis of grapevine (*Vitis* spp.) genotypes. *HortScience*, Alexandria, v.26, n.12, p.1551-1553, 1991.
6. SCHUCK, E; ANDRADE, E.R. de; GALLOTTI, G.J.M.; DAL BÓ, M.A. Novas alternativas na busca de soluções para o controle do declínio da videira. *Agropecuária Catarinense*, Florianópolis, v.6, n.4, p.48-50, 1993.
7. SILVA, A.L. da, Programa de certificação de mudas de videira em Santa Catarina. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 2002, Caldas, MG. *Viticultura e Enologia: atualizando conceitos*. Caldas: Epamig, 2002, p.215-231.
8. SILVA A.L. da; DOAZAN J.P. Une méthode d'irradiation aux rayons gamma appliquée à des porte-greffes de vigne *in vitro*. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, Bordeaux, v.29, n.1, p.1-9, 1995.
9. TORREGROSA, L.; BOUQUET, A. *In vitro* propagation of *Vitis x Muscadinia* hybrids by microcuttings or axillary budding. *Vitis*, Geneva, v. 34, n. 4, p. 237-238, 1995.

□

Você não precisa exagerar para dar visibilidade ao seu produto.

Revista Agropecuária Catarinense

Seu anúncio nas mãos de quem interessa.

Rodovia Admar Gonzaga, 1.347, Itacorubi, C.P. 502
 Fone: (048) 239-5520, fax: (048) 239-5597
 internet: www.epagri.rct-sc.br
 E-mail: rac@epagri.rct-sc.br
 88034-901 Florianópolis, Santa Catarina, Brasil