

Influência da Aplicação de Reguladores de Crescimento na Obtenção de Populações Híbridas de Videira

Influence of Plant Growth Regulators Application in Obtaining Hybrid Grapevine Populations

Bruna Thais Gonçalves Nunes¹; Kacya Lowrana Galvão de Araújo²; Patrícia Coelho de Souza Leão³; Nataniel Franklin de Melo⁴

Abstract

This study aimed to verify the effect of application of plant growth regulators in order to obtain hybrid populations through the *in vitro* embryo rescue in two crosses of grapevine. The experiment was designed in two types of crosses with application of ANA, BAP, GA3 and two combinations of BAP + ANA and BAP + GA3. Ovules were inoculated in culture medium seven weeks after emasculation and embryos were rescued 45 days after inoculation. The following parameters were evaluated: number of inoculated berries and ovules, frequency related to embryos rescued and germinated. The ANA treatment presented the highest percentage of embryos rescued at crossing 1, followed by treatment with GA3, which stood out at both crosses, with 63.23% and 56.11%, respectively. Lower

¹Bióloga, mestranda em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), bolsista Capes, Feira de Santana. BA.

²Estudante de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco (UPE), estagiária da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

³Engenheira-agrônoma, D.Sc. Melhoramento Genético/Fitotecnia, pesquisadora da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

⁴Biólogo, D.Sc. Ciências Biológicas, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

percentages were obtained in ANA + BAP and in the two control treatments. The application of single growth regulators significantly increased the percentage of embryos rescued and germinated.

Palavras-chave: resgate de embriões, uva sem semente, cultivo in vitro.

Keywords: embryo rescue, seedless grape, in vitro culture.

Introdução

Um dos maiores desafios do segmento da viticultura nacional, principalmente na produção de uvas para exportação, é o desenvolvimento de novas cultivares de uvas finas sem sementes, que apresentem adaptação às condições edafoclimáticas brasileiras e qualidade ajustada com as demandas de mercado internacional (MAIA et al., 2012).

A técnica de resgate de embriões pode ser utilizada como ferramenta para o melhoramento genético de videira (*Vitis vinifera* L.). Isso pode ser feito por meio da coleta e cultivo in vitro de óvulos, 6 a 8 semanas após a polinização, com posterior resgate do embrião que é colocado para germinação em meio de cultura específico. Deste procedimento, serão geradas plântulas com novas combinações genéticas (MELO, 2004; PASSOS et al., 1985).

Cruzamentos entre variedades sem sementes podem originar 85% de progênie sem sementes (CAIN et al., 1983; EMERSHAD; RAMMING, 1984). Entretanto, o percentual de plântulas obtidas por meio dessa técnica ainda é baixo, com valores inferiores a 20% (AMARAL et al., 2000; LEÃO et al., 2013; NUNES et al., 2014).

Agüero et al. (1995) e Bharathy et al. (2003), aplicando benziladenina em cruzamentos realizados em cultivares sem sementes, observaram maior percentual na obtenção de plantas híbridas. O uso de giberelina também tem possibilitado resultados satisfatórios (LEDBETTER; SHONNARD, 1990). Esses autores conseguiram 56% de germinação de sementes-traço na cultivar C35-33, quando comparado aos 12,4% obtidos no tratamento controle.

O objetivo deste trabalho foi verificar a eficiência da aplicação de reguladores de crescimento na obtenção de populações híbridas a fim de gerar novos genótipos para o programa de melhoramento genético da videira da Embrapa Semiárido.

Material e Métodos

Os cruzamentos foram realizados em videiras instaladas no Campo Experimental de Bebedouro da Embrapa Semiárido (Petrolina, PE), utilizando-se o procedimento clássico de emasculação do progenitor feminino e polinização, descrito por Santos Neto (1955).

A cultivar Marroo Seedless foi utilizada como progenitor feminino e as cultivares CG 351 e Jupiter, como progenitores masculinos. Dois cruzamentos (cruzamento 1: 'Marroo Seedless' x 'CG 351' e cruzamento 2: 'Marroo Seedless' x 'Jupiter') foram feitos e organizados em experimento conduzido em delineamento experimental em blocos casualizados, com seis tratamentos. Em cinco deles foi realizada a aplicação de diferentes doses isoladas ou combinadas de reguladores de crescimento, e uma testemunha (controle), na qual não se realizou nenhum tipo de aplicação.

Os reguladores de crescimento utilizados foram o ácido naftalenoacético (ANA), a benzilaminopurina (BAP) e o ácido giberélico (GA3) (Tabela 1). As aplicações foram realizadas de acordo com a metodologia proposta por Bharathy et al. (2005).

Tabela 1. Reguladores de crescimento e doses aplicadas em cachos resultantes do cruzamento de videiras (*Vitis vinifera* L.) da Embrapa Semiárido. Petrolina, PE, 2017.

Tratamento	1ª aplicação (d.a.f*)	Doses (mg/L)	2ª aplicação (d.a.e**)	Doses (mg/L)
ANA	10	20	7	20
BAP	10	50	7	50
GA3	10	50	7	50
ANA + BAP	10	20 + 50	7	20 + 50
BAP + GA3	10	50 + 50	7	50 + 50
Controle		0		0

d.a.f* = dias antes da floração; d.a.e** = dias após a emasculação.

Cinco cachos de cada tratamento foram emasculados e polinizados, tendo sido coletados 7 semanas após esse procedimento, e levados para o Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Semiárido. Em

câmara de fluxo laminar, foi realizada a desinfestação das bagas por meio de imersão em álcool etílico 70% (v/v) por 1 minuto, e logo depois em hipoclorito de sódio a 0,2% por 20 minutos sob agitação, seguido de lavagem em água destilada e autoclavada.

Os óvulos extraídos de cada baga foram inoculados em tubos de ensaio contendo o meio de cultura formulado por Galzy (1964) e mantidos em sala de crescimento com controle de temperatura, fotoperíodo e luminosidade. Aos 45 dias após a inoculação dos óvulos, deu-se início ao resgate de embriões com o auxílio de um estereomicroscópio. Os embriões foram inoculados em meio de cultura WPM (LLOYD; MC COWN, 1980).

O material foi cultivado durante 60 dias em sala de crescimento com mesmas condições descritas anteriormente. Foram avaliados os números de bagas produzidas, de óvulos extraídos, de embriões resgatados e de embriões germinados em cada um dos tratamentos.

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000) e, as médias, comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

De modo geral, as percentagens de resgate de embriões foram significativamente maiores nos cachos dos tratamentos que receberam as pulverizações com reguladores isolados, quando comparados àqueles do tratamento controle, com exceção do BAP no cruzamento 1 (Tabela 2).

No tratamento com ANA, o maior percentual de embriões resgatados ocorreu no cruzamento 1, seguido do tratamento com GA3, que se destacaram nos dois cruzamentos realizados, com valores médios de 63,23% e 56,11%, respectivamente. Os menores valores percentuais de resgate de embrião foram obtidos com o uso da combinação de ANA + BAP. O mesmo foi observado no tratamento controle para os dois cruzamentos avaliados.

Em outros trabalhos, como o de Agüero et al. (2000), que estudaram os efeitos da aplicação de reguladores de crescimento em cultivares sem sementes, foi relatado que a giberelina é eficaz para o desenvolvimento das sementes-traço, confirmando a ação indutiva de crescimento do GA3.

Tabela 2. Efeito do uso de reguladores de crescimento em cachos resultantes do cruzamento de videira (*Vitis vinifera* L.) ('Marroo Seedless' x 'CG 351' e 'Marroo Seedless' x 'Jupiter') sobre o resgate e a germinação in vitro de embriões zigóticos.

Tratamento	Número de bagas produzidas	Número de óvulos inoculados	Embriões resgatados (%)	Embriões Germinados (%)
Cruzamento 1: 'Marroo Seedless' x 'CG 351'				
Controle	183	170	36,46 c	21,76 b
ANA	98	60	63,33 a	48,33 a
BAP	161	216	31,94 c	21,75 b
GA3	60	68	63,23 a	47,05 a
ANA + BAP	161	86	23,26 d	12,79 c
BAP + GA3	130	79	51,90 b	27,82 b
CV (%)			6,68	13,18
Média			45,02	29,93
Cruzamento 2: 'Marroo Seedless' x 'Jupiter'				
Controle	275	318	25,15 d	18,55 d
ANA	161	218	50,91 b	27,97 c
BAP	247	158	48,10 b	32,91 b
GA3	182	221	56,11 a	40,72 a
ANA + BAP	333	76	38,16 c	17,10 d
BAP + GA3	309	139	49,72 b	28,13 c
CV (%)			3,71	5,80
Média			44,69	27,56

Médias seguidas das mesmas letras em cada coluna, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na Tabela 2, observa-se ainda que a aplicação de ANA e GA3 nos cachos foi mais eficiente do que a aplicação de BAP para induzir a germinação de embriões, com obtenção de 48,33% e 47,05% de embriões germinados no cruzamento 1, respectivamente. Entretanto, quando associados a outros reguladores (combinações ANA + BAP e BAP + GA3), observou-se uma diminuição significativa da germinação. Este resultado pode ter decorrido da associação com

o BAP, já que as citocininas podem contrastar o efeito de outros reguladores, pois elas são responsáveis pela divisão e expansão celulares nos tecidos dos frutos, ainda que a quantidade dos outros reguladores seja maior na semente que nas células do fruto ao seu redor (KERBAUY, 2004).

Esses resultados diferem dos relatados por Barathy et al. (2005) e Khoshandan et al. (2017), que observaram maiores percentuais de germinação de embriões (47,5 e 33, respectivamente), quando os cachos foram pré-tratados com a citocinina BAP.

Conclusões

A aplicação de GA3 e ANA em cachos de videira resultantes do cruzamento entre 'Marroo Seedless' x 'CG 351' e, apenas do GA3, em cachos resultantes do cruzamento 'Marroo Seedless' x 'Jupiter', aumenta significativamente a eficiência na obtenção de plantas híbridas.

O efeito passa a ser negativo quando esses reguladores de crescimento são utilizados em combinação.

Referências

AGÜERO, C.; VIGLIOCCO, A.; ABDALA, G.; TIZIO, R. Effect of gibberellic acid and uniconazol on embryo abortion in the stenospermocarpic grape cultivars Emperatriz and Perlon. **Plant Growth Regulation**, [Cham], v. 30, n. 1, p. 9-16, 2000.

AGÜERO, C.; RIQUELME, C.; TIZIO, R. Embryo rescue from seedless grapevines (*Vitis vinifera* L.) treated with growth retardants. **Vitis**, [Quedlinburg], v. 34, n. 2, p. 73-76, 1995.

AMARAL, A. D.; OLIVEIRA, P. D.; CAMARGO, U. A.; CZERMAINSKI, A. B. C. Eficiência da técnica de resgate de embriões na obtenção de híbridos entre cultivares apirênicas de videira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, p. 176-180, 2000.

BHARATHY, P. V.; KARIBASAPPA, G. S.; BIRADAR, A. B.; KULKARNI, D. D.; SOLANKE, A. U.; PATIL, S. G.; AGRAWAL, D. C. Influence of pre-bloom sprays of benzyladenine on in vitro recovery of hybrid embryos from crosses of Thompson Seedless and 8 seeded varieties of grape (*Vitis* spp.). **Vitis**, Siebeldingen, v. 42, n. 4, p. 199-202, 2003.

BHARATHY, P. V.; KARIBASAPPA, G. S.; PATIL, S. G.; AGRAWAL, D. C. In ovulo rescue of hybrid embryos in Flame Seedless grapes: influence of prebloom sprays of benzyladenine. **Scientia Horticulturae**, [Oxford], v. 106, n. 3, p. 353-359, 2005.

CAIN, D. W.; EMERSHAD, R. L.; TARAIOLO, R. E. In-ovulo embryo culture and seedling development of seeded and seedless grapes (*Vitis vinifera* L.). *Vitis*, [Quedlinburg], v. 22, n. 1, p. 9-14, 1983.

EMERSHAD, R. L.; RAMMING, D. W. In-ovulo embryo culture of *Vitis vinifera* L. cv. 'Thompson Seedless'. *American Journal of Botany*, New York, v. 71, n. 6, p. 873-877, 1984.

FERREIRA, D. F. **Sistemas de análise estatística para dados balanceados** Lavras: UFLA, 2000. 145 p.

GALZY, R. Technique de thermothérapie des virus de la vigne. **Annales des Epiphyties**, Paris, v. 15, p. 245-256, 1964.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 217 p.

KHOSHANDAM, L.; BANEH, H. D.; MARANDI, R. J.; DARWISHZADEH, R. Effect of BA and ovule developmental stages on embryo rescue in Perlette grape cultivar (*Vitis vinifera* L.). **European Online Journal of Natural and Social Sciences**, Čakovice, v. 6, n. 1, p. 1, 2017.

LEÃO, P. C. S.; OLIVEIRA, V. R.; NUNES, B. T. G.; MARTINS, B. E. S. Eficiência na obtenção de híbridos por meio da técnica de resgate de embriões para desenvolvimento de cultivares de uvas sem sementes no Semiárido brasileiro: 2011-2012. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 7., 2013, Uberlândia. **Varietade melhorada: a força da nossa agricultura: anais**. Viçosa, MG: SBMP, 2013. p. 146-149.

LEDBETTER, C. A.; SHONNARD, C. B. Improved seed development and germination of stenospermic grapes by plant growth regulators. **Journal of Horticultural Science**, [Abingdon], v. 65, n. 3, p. 269-274, 1990.

LLOYD, G.; MC COWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washington, v. 30, p. 421-427, 1980.

MAIA, J. D. G.; RITSCHER, P.; CAMARGO, U. A.; SOUZA R. T. de; FAJARDO, T. V.; NAVES, R. de L.; GIRARDI, C. L. **'BRS Vitória' nova cultivar de uva de mesa sem sementes com sabor especial e tolerante ao míldio**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2012. 12 p. il. (Embrapa Uva e Vinho. Comunicado Técnico, 126).

MELO, N. F. de. Contribuição da biotecnologia no desenvolvimento da viticultura no Vale do São Francisco. In: SEMINÁRIO NOVAS PERSPECTIVAS PARA O CULTIVO DA UVA SEM SEMENTES NO VALE DO SÃO FRANCISCO, 2004, Petrolina. **Palestras...** Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2004. 1 CD-ROM. (Embrapa Semiárido. Documentos, 185).

NUNES, B. T. G.; PEDROSO, A. D. das D.; MELO, N. F. de.; LEÃO, P. C. de S. Obtenção de híbridos de uvas sem sementes por meio da técnica de resgate de embriões durante o período de 2013-2014. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA SEMIÁRIDO, 9., 2014, Petrolina. Anais... Petrolina: Embrapa Semiárido, 2014. p. 103-108.

PASSOS, I. R. da S.; TERRA, M. M.; PIRES, E. J. P. Pesquisas com a videira no IAC: cultura in vitro. **O Agrônomo**, Campinas, v. 37, n. 3, p. 155-160, 1985.

SANTOS NETO, J. R. A. Grape breeding in Brazil. **Bragantia**, v. 14, p. 237-258, 1955.