

MICROENXERTIA EM CULTIVARES DE MANGA¹

RONALDO POSELLA ZACCARO², LUIZ CARLOS DONADIO³, ELIANA GERTRUDES MACEDO LEMOS⁴

RESUMO - Com a finalidade de se testar a viabilidade do método de microenxertia para produzir mudas de mangueira livres do fungo *Fusarium subglutinans*, agente causal da malformação, foram realizados experimentos utilizando-se do ápice meristemático da cultivar Tommy Atkins. Retirou-se o ápice meristemático do porta-enxerto e colocou-se o ápice meristemático da cultivar-copa, denominando-se essa metodologia de “microenxertia por substituição de ápice meristemático”, na qual foram utilizadas as cultivares Coquinho, Espada, Ouro e Ubá como porta-enxertos. O material de propagação utilizado foi retirado de uma planta-matriz da cultivar Tommy Atkins sem sintomas de malformação. Primeiramente, a parte apical dos ramos foi cortada com aproximadamente 3 cm de comprimento. Os meristemas foram colocados em uma solução antioxidante composta de ácido ascórbico, ácido cítrico e L-cisteína, para evitar a oxidação dos compostos fenólicos existentes na manga. Os meristemas apicais foram cortados com comprimento de 2 mm. Em seguida, efetuou-se o corte do meristema apical e de folhas do porta-enxerto, colocando-se o meristema apical sobre o corte do porta-enxerto, recobrimo-se com Parafilm[®]. Demonstrou-se com a técnica de microenxertia a possibilidade de formação de plantas-matrizes, para implantação de jardim clonal em condições de viveiro protegido.

Termos para indexação: *Fusarium subglutinans*, malformação, *Mangifera indica* L., propagação da manga

MICROGRAFTING IN MANGO CULTIVARS

ABSTRACT - This research was carried out with the purpose to produce mangoes trees free of fungus *Fusarium subglutinans*, causal agent of mango malformation by using the apex meristem to substitute it for the meristem of the commercial cultivar Tommy Atkins. This micrografting methodology was denominated “meristem substitution” through which the cultivars Coquinho, Espada, Ouro and Ubá were used as rootstocks. The micrografts were collected from ‘Tommy Atkins’ mother plant without malformation symptoms. Firstly, branch apices were cut off having length of 3 cm. Each apex meristem was placed in an antioxidant solution composed of ascorbic acid, citric acid and cistein, to avoid the oxidation of the fenolic compounds. The apex meristem was cut with 2 mm length. The apex meristem and leaves of the rootstock were also cut off then the apex meristem of Tommy Atkins was placed on the extremity of the rootstock, being covered with Parafilm[®]. It was demonstrated that micrografting technique may develop matrix plants to implant a cloned garden in the protected greenhouse conditions.

Index terms: *Fusarium subglutinans*, *Mangifera indica* L., mango malformation, mango propagation.

O processo de enxertia geralmente une dois materiais vegetais geneticamente distintos, porém compatíveis, que passam a compartilhar uma série de fatores essenciais à sobrevivência de ambos. Essa compatibilidade é fundamental para o sucesso da enxertia. Entretanto, vários fatores possibilitam a incompatibilidade na enxertia: a falta de afinidade anatômica quanto ao tamanho e forma das células, a exigência nutricional e ciclo de vida dos tecidos envolvidos, o porte e o vigor das cultivares de copa e porta-enxerto, a consistência dos tecidos, a oxidação de substâncias fenólicas que dificulta a formação de calos, e a presença de microrganismos fitopatogênicos em ambas as partes (FACHINELLO et al., 1995).

Para obtenção de material de propagação livre de fungos, bactérias ou vírus, uma pequena parte da planta, como uma estaca, escama de bulbo ou meristema, pode constituir-se em bom material de propagação inicial (HARTMAN et al., 1997). Desta forma o cultivo de meristema foi uma das técnicas desenvolvidas para a obtenção de plantas sadias, primeiramente aplicado em dalias por HOLMES (1948). Por outro lado, quando essa técnica de regeneração se torna difícil, pode-se utilizar meristema enxertado *in vitro* em plântulas livres de doenças, obtendo-se assim clones livres de vírus, como utilizado em citros (MURASHIGE et al., 1972).

Na junção microenxerto com o porta-enxerto, ocorre o desenvolvimento de um calo, resultante da proliferação de várias células de tecido parenquimático situadas próximas à superfície, entre as lesões dos dois tecidos. Esse calo preenche os espaços entre ambas as partes, tornando-as contínuas pela conexão formada pela diferenciação de suas células em tecidos vasculares. O problema sobre qual tipo de células dá origem ao calo na enxertia, é debatido freqüentemente na literatura, sendo os raios xilemáticos ou as novas

células derivadas do câmbio mencionadas como as principais fontes de origem desses calos (ESAU, 1974).

Plantas cítricas livres de viroses foram obtidas através da técnica de microenxertia *in vitro*, sendo o sucesso desse método associado ao grau de diferenciação do tecido meristemático enxertado, pois caso já existam tecidos diferenciados de uma planta infectada, há a possibilidade de os mesmos já estarem infectados, recomendando-se a retirada de meristemas contendo apenas dois primórdios foliares e medindo entre 0,14 e 0,18 cm (NAVARRO et al., 1981).

Com a intenção de eliminar vírus de plantas cítricas, sem entretanto utilizar o processo de obtenção *in vitro* das mesmas, TAKAHARA et al. (1986) desenvolveram metodologia denominada de “semimicroenxertia”, que não requer condições assépticas na sua condução e associa tratamento térmico com a enxertia de ápices de tamanho reduzido com 0,2 a 0,4 mm de comprimento, sobre plântulas decapitadas acerca de 2,0 – 2,5 cm do solo. Esses autores observaram sobrevivência em campo de 10 a 20 % das mudas enxertadas e indexadas para doenças viróticas de citros.

A técnica de microenxertia utilizada em citros baseia-se em dois fatos principais: 1) a maioria dos vírus de citros não se transmite pela semente; 2) o ápice caulinar ou meristema apical de plantas infectadas de tecido ainda não diferenciado pode estar livre de vírus e micoplasma, e quanto menor for o segmento apical, maior a probabilidade de se obterem plantas sadias (ROSSETTI, 1980).

ANJOS et al. (2002), em levantamento realizado no período de 1998-2000, em plantios comerciais de manga no cerrado do Brasil central, constataram a presença do fungo *Fusarium sacchari* (E.J Buttler & Hafiz Kahn) W. Gams em todas as amostras com sintomas

¹ (Trabalho 122-2005). Recebido: 16-08-2005. Aceito para publicação: 09-11-2006. ¹Parte da Tese do primeiro autor para obtenção do Título de Doutor em Agronomia. Bolsista da FAPESP (Processo nº 98/09851-1)

² Engenheiro Agrônomo, Dr., Pós Doutorado do Departamento de Produção Vegetal da FCAV Jaboticabal – UNESP - rzaccaro@fcav.unesp.br

³ Prof. Titular do Departamento de Produção Vegetal – FCAV Jaboticabal – UNESP

⁴ Profa. Titular do Departamento de Tecnologia – FCAV Jaboticabal – UNESP

de malformação vegetativa e floral e observaram que a malformação floral foi severa em 33,33% das áreas inspecionadas e medianamente severa em 27,78% delas, recomendando que uma das formas de diminuir as perdas seria a aquisição de mudas livres da doença.

MATOS et al. (2004) destacam que *Fusarium sacchari* é uma sinonímia de *Fusarium subglutinans*, sendo esta última a denominação mais aceita atualmente.

Baseando-se nas técnicas desenvolvidas por TAKAHARA et al. (1986) para microenxertia de citros, realizou-se este trabalho com o objetivo de se formarem plantas de mangueira sem sintomas da malformação, ou seja, livres do fungo *Fusarium subglutinans*, que possam ser utilizadas como plantas-matrizes cultivadas em ambiente protegido em viveiros comerciais, para retirada de material de propagação sadio para formação de mudas de mangueira.

Inicialmente, prepararam-se os porta-enxertos das cultivares Coquinho, Espada, Ouro e Ubá, semeando-se em vasos plásticos de 14 x 14 cm contendo uma mistura em partes iguais de terra, areia e esterco de gado curtido. O material de propagação para a realização dos ensaios foi retirado de uma planta-matriz da cultivar Tommy Atkins sem sintomas visuais de malformação. Os ramos ponteiros foram retirados da planta-matriz com aproximadamente 15 cm de comprimento, retirando-se os pecíolos foliares. No laboratório, cortou-se a parte apical dos ramos com aproximadamente 3 cm de comprimento para efetuar-se a desinfecção superficial do material, sendo imersos em etanol 70%, durante 1 min. Em seguida, efetuou-se a lavagem do excesso de etanol com água destilada, repetindo-se essa operação 3 vezes, sendo então colocados em um recipiente de vidro contendo uma solução antioxidante composta de 150 mg/L de ácido ascórbico, 25 mg/L de ácido cítrico e 2 mg/L de L-cisteína. O meristema apical foi preparado retirando-se os primórdios foliares, cortando-os em comprimento aproximado de 0,2 cm. Nos porta-enxertos onde foram cortados os meristemas apicais, aplicou-se a solução antioxidante por aproximadamente 2 min, com algodão embebido, procedendo-se à colocação do meristema apical do enxerto sobre o corte do porta-

enxerto e a aplicação da fita Parafilm® para isolar e fixar o meristema.

Novo lote de porta-enxertos foi preparado utilizando-se, nesse caso, somente a cultivar Espada semeada em sacos plásticos de 20 x 30 cm e 0,012 cm de espessura, contendo também a mistura em partes iguais de terra, areia e esterco curtido de gado. Efetuou-se, no porta-enxerto, o corte do meristema apical e folhas próximas, aplicando-se a mesma metodologia descrita acima.

Com o método de substituição de meristema, realizou-se, na primeira fase, 128 microenxertos e obteve-se o primeiro resultado positivo com os microenxertos realizados nos porta-enxertos das cultivares Espada e Ubá, com 1 pegamento em cada, respectivamente. Entretanto, apesar de terem sido realizados 128 microenxertos até 17 de julho de 2000, não se obtiveram mais resultados positivos.

Nos ensaios de microenxertia a partir de janeiro de 2001 (Tabela 1), houve uma tendência de aumento na porcentagem de sucesso dos microenxertos no decorrer dos ensaios. No entanto, há dificuldade na eficiência da justaposição do meristema do microenxerto exatamente no centro do meristema do porta-enxerto, para que haja uma solução de continuidade, e o fluxo de seiva possa nutrir o meristema enxertado.

DEOGRATIAS et al. (1986) realizaram ensaios de microenxertia *in vitro* para obterem plantas de *Prunus* spp livres de vírus, utilizando ápices meristemáticos em estágio jovem e adulto, e obtiveram 50 % de pegamento com os ápices em estágio juvenil, mas somente de 15 a 20 % de sucesso com meristemas em estágio adulto. Observaram que a taxa de sobrevivência dos meristemas estava diretamente relacionada com o seu tamanho, estágio fisiológico da planta, condição do meio ambiente e incidência de viroses.

Com os microenxertos realizados nos porta-enxertos 'Coquinho', 'Espada', 'Ouro' e 'Ubá', utilizados a partir de 03-01 até 04-04-2001, formados em vasos plásticos pequenos, obtiveram-se baixas porcentagens de pegamento de 14 % para a 'Coquinho', 6,6 % para a 'Espada', 8 % para a 'Ouro' e 6,25 % para a 'Ubá', indicando a possibilidade de aperfeiçoar o método proposto.

TABELA 1 - Resultados obtidos nos ensaios de microenxertia após 20 dias.

Data	Porta-enxerto	Quantidade	Pegamento (após 20 dias)	Pegamento (%)
03-01-2001	OURO	6	1	16,6
03-01-2001	COQUINHO	10	1	10,0
05-01-2001	UBÁ	11	0	0,0
05-01-2001	ESPADA	7	0	0,0
09-01-2001	OURO	9	0	0,0
09-01-2001	COQUINHO	11	0	0,0
12-01-2001	UBÁ	7	0	0,0
12-01-2001	OURO	4	0	0,0
12-01-2001	COQUINHO	10	1	10,0
16-03-2001	OURO	11	1	9,0
16-03-2001	COQUINHO	11	1	9,0
19-03-2001	COQUINHO	7	1	14,2
19-03-2001	ESPADA	8	1	12,5
21-03-2001	UBÁ	14	2	14,2
21-03-2001	OURO	10	0	0,0
30-03-2001	OURO	10	2	20,0
04-04-2001	COQUINHO	15	5	33,3
20-04-2001	ESPADA	17	8	47,0
24-04-2001	ESPADA	12	5	41,6
02-05-2001	ESPADA	10	4	40,0
04-05-2001	ESPADA	10	2	20,0
30-05-2001	ESPADA	15	6	40,0
26-09-2001	ESPADA	20	0	0,0
28-09-2001	ESPADA	15	0	0,0
22-01-2002	ESPADA	24	13	54,1

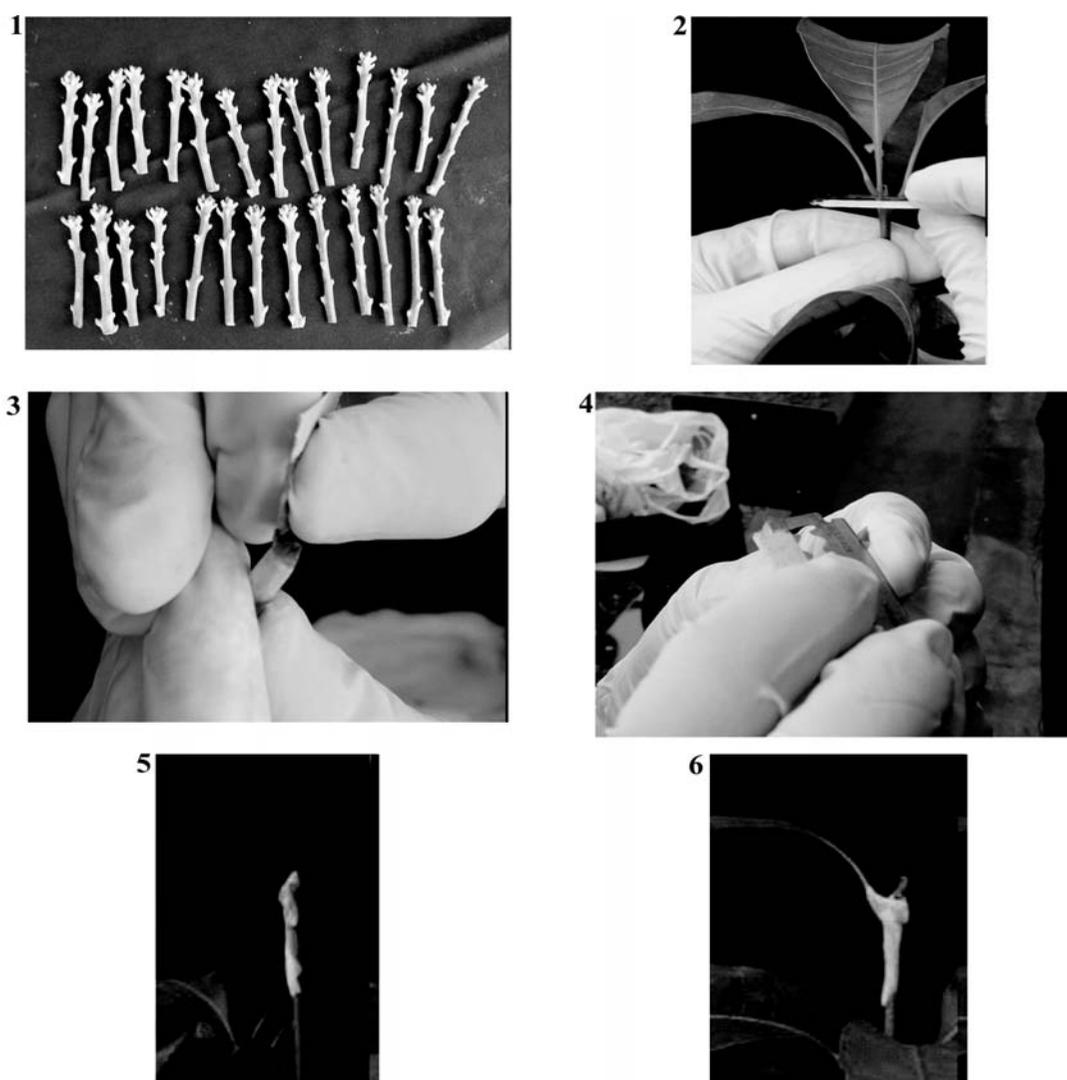


FIGURA 1 - 1 - Ponteiros retirados da planta-matriz; 2 - Corte do meristema apical e folhas do porta-enxerto; 3 - Preparação do meristema; 4 - Corte do meristema apical; 5 - Microenxerto pronto; 6 - Início de brotação do meristema.

Com os porta-enxertos da cultivar Espada semeados em sacos plásticos de 20 x 30 cm, observou-se maior crescimento das plantas e obteve-se porcentagem de pegamento médio de 30 %. Os microenxertos realizados nos meses de abril e maio apresentaram bom pegamento, pois foi um período de temperaturas diurnas altas e amenas à noite. Por outro lado, no mês de setembro, as temperaturas noturnas ainda estavam baixas e não favoreceram o pegamento.

Com os resultados obtidos, pode-se concluir que a utilização da microenxertia para a formação de mudas de manga pode ser indicada com a finalidade de se formarem plantas-matrizes que deverão ser mantidas em condições de viveiro protegido.

REFERÊNCIAS

- ANJOS, J. R. N.; CHARCHAR, M. J. A.; PINTO, A. C. Q. **Distribuição e severidade da malformação da mangueira no Brasil Central**. Planaltina - DF: Embrapa Cerrados, 2002. 17p. (Documentos, 53).
- DEOGRATIAS, J.M.; LUTZ, A.; DOSBA, F. Shoot-tip micrografting of *in vitro* micropropagated sweet cherries (*Prunus avium* L.), in order to eliminate 3 viruses (CLSV, PDV and NRSV). **Fruits**, Paris, v. 41, n. 11, p. 675-680, 1986.
- ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo: Editora Blucher, 1974. 293p.
- FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E.; FORTES, G. R. L. **Propagação de frutíferas de clima temperado**. Pelotas: Gráfica Universitária da UFPEL, 1995. 175p.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. New Jersey: Prentice-Hall, 1997. 352p.
- HOLMES, F. O. Elimination of spotted wilt from a stock of dahlia. **Phytopathology**, St Paul, v.38, p.314, 1948.
- MATOS, A. P.; CASTRO NETO, M. T.; FERREIRA, D. M. V.; SANTOS FILHO, H. P. Malformação: uma ameaça à expansão da mangicultura. **Bahia Agrícola**, Salvador, v. 6, p. 63-68. 2004.
- MURASHIGE, T.; BITTERS, W. P.; RANGAN, T. S.; NAUER, E.; ROISTACHER, C. N.; HOLLIDAY, P. B. A technique of shoots apex grafting and its utilization toward recovering virus free citrus clones. **HortScience**, Alexandria, v.7, n.2, p.118-119, 1972.
- NAVARRO, L.; BALLESTER, J. F. E.; JUAREZ, J.; PINA, J. A.; ARREGUI, J. M.; BONO, R. Development of a program for disease-free citrus budwood in Spain. **Proceedings of the International Society of Citriculture**, Riverside, v. 1, n. 1, p. 70-73, 1981.
- ROSSETTI, V. Microenxertia em citros. In: RODRIGUES, O.; VIEGAS, F. (Coord.). **Citricultura brasileira**. Campinas: Fundação Cargill, 1980. p.609-621.
- TAKAHARA, T.; OKUDAI, N.; KUHARA, S. **Elimination of citrus viruses by semi-micrografting**. Kuchinotsu: Fruit Tree Research Station, 1986. p.13-24. (Bulletin, 8).