

Processo de Seleção Escape para Obtenção de Plantas de Pessegueiro e Ameixeira com Alta Sanidade

Introdução

A partir do segundo semestre de 2000, foram iniciadas atividades na Embrapa Clima Temperado para obtenção de plantas de pessegueiro e ameixeira com a finalidade de constituir um banco de matrizes fornecedor de material propagativo com alta sanidade. Ao longo do processo estão sendo obtidas plantas avaliadas em relação às principais enfermidades transmitidas vegetativamente, selecionando-se, desta forma, plantas matrizes denominadas "escapes", por estarem naturalmente isentas de patógenos. A realização deste trabalho necessita de um conjunto de atividades, em etapas sequenciais, que iniciam com a seleção em campo do material propagativo usado para enxertia e produção das mudas as quais darão início ao processo de obtenção das plantas com alta sanidade.

Em todas as culturas perenes, multiplicadas vegetativamente, o acúmulo de enfermidades após sucessivas multiplicações é um problema extremamente sério, podendo haver contaminação por uma ou mais viroses ou bacterioses, o que ocasiona altas reduções de produtividade, comprometimento da qualidade dos frutos ou dos produtos finais, assim como da rentabilidade do processo produtivo, depreciando os investimentos realizados para implantação e manutenção de pomares. Com relação à cultura do pessegueiro, sabe-se que praticamente todo o material propagativo, usado na produção de mudas no Rio Grande do Sul não tem sido avaliado em relação à infecção por viroses.

Com relação à ameixeira, o problema é ainda mais sério pois além de estar exposta à contaminação de todas as viroses que ocorrem no pessegueiro, também sofre com a infecção de uma bactéria denominada *Xylella fastidiosa*, cujos efeitos incondicionalmente levam a morte das plantas, causando declínio dos pomares e desmotivação dos produtores na realização de novos investimento com a cultura. Portanto, a sustentabilidade da cadeia produtiva, tanto da cultura do pessegueiro como da ameixeira, necessitam de ações de planejamento e de estruturação de programas de pesquisa voltados a atividades que envolvam o desenvolvimento de tecnologias estratégicas para a produção de mudas de qualidade.

Para o desenvolvimento de um sistema de produção e distribuição de material básico certificadamente sadio, países onde a fruticultura tem longa tradição já estabeleceram sistemas de limpeza e distribuição de material propagativo (MEIJNEKE et al., 1982). Atualmente, a maioria dos fruticultores e viveiristas estão conscientes do risco que as doenças transmitidas vegetativamente representam para suas plantas e para toda a atividade econômica. Mudanças produzidas a partir de material propagativo livre de vírus apresentam melhor desenvolvimento. Material propagativo obtido por seleção e checagem, cultura de meristemas, termoterapia e indexação, pode ser mantido sadio, desde que sejam seguidas normas específicas que evitem contaminações futuras.

No caso do pessegueiro e da ameixeira, a micropropagação não tem sido recomendada, embora seja o processo mais comum para obter plantas livres de vírus para várias espécies vegetais. Apenas algumas atividades com porta enxertos do gênero *Prunus* têm sido realizadas (COUTO et al, 2004). Para as culturas onde a

Autores

Luis A. Suita de Castro
Eng. Agrôn. M.Sc.
Pesquisador
Embrapa Clima Temperado,
Pelotas, RS
suaita@cpact.embrapa.br

Carlos A. Pozzer Silveira
Eng. Agrôn. Dr.
Pesquisador
Embrapa Clima Temperado,
Pelotas, RS
posser@cpact.embrapa.br

técnica está bem estabelecida, apresenta as vantagens de possibilitar a produção massal de mudas livres de patógenos e com uniformidade genética em pequenos espaços físicos e curto período de tempo. Tentativas realizadas em 1997 (CHALFUN e HOFFMANN, 1997) demonstraram que a micropropagação de *Prunus* apresenta problemas de oxidação, contaminação por bactérias endofíticas, dificuldade de enraizamento e, principalmente, baixa taxa de multiplicação dos explantes, havendo a necessidade de maiores estudos. Segundo Parfitt e Almehdi (1986), também existe uma resposta diferencial em relação aos genótipos, sendo necessários protocolos diferenciais. O cultivo *in vitro*, como qualquer outro processo, é sensível a alguns problemas de ordem ambiental ou biológico que afetam diretamente o desenvolvimento das culturas. Dentre estes problemas podem ser citada a oxidação, o declínio no vigor e a hiperhidricidade (SANTOS et al., 2001). Atividades desenvolvidas na Embrapa Clima Temperado com ameixeira da cultivar Santa Rosa mostraram que as plantas podem apresentar rejuvenescimento, retardando a entrada no período produtivo. Também podem apresentar mutações que só são visíveis ao longo do tempo e que podem se estender por anos caso sejam descobertas tardiamente e caso esta planta venha a ser usada como matriz.

Independente do processo utilizado para obter plantas com alta sanidade, qualquer material vegetal só pode ser considerado isento de inóculo causador de enfermidades a partir da realização de testes de indexação. Os métodos são amplamente estabelecidos e podem incluir a sorologia, indexação biológica, molecular, histológica e bioquímica, segundo a conveniência, adequação e necessidade (STOUFER e FRIDLUNG, 1989; SANTOS FILHO e NICKEL, 1993).

O objetivo do trabalho realizado foi adaptar procedimentos que permitissem obter plantas das principais cultivares de pessegueiro e ameixeira isentas das principais enfermidades propagadas vegetativamente, disponibilizando material propagativo com alta sanidade para as entidades de pesquisa e aos viveristas regionais.

Procedimentos realizados para seleção de plantas escapes livres de patógenos

O processo de obtenção de plantas de pessegueiro com alta sanidade tem por base a seleção de indivíduos escapes, ou seja, plantas que, embora

estejam expostas aos organismos causadores de enfermidade, não apresentam infecção por patógenos, principalmente viroses e bacterioses (Figura 1). Muitas dessas enfermidades, após a infecção natural, são disseminadas vegetativamente, por vezes de forma até mais intensa, como é o caso de algumas viroses do pessegueiro que são transmitidas por enxertia, nas quais a partir de apenas uma planta podem ser produzidas centenas de outras plantas contaminadas.

O processo para obtenção de plantas escapes inicia pela seleção de plantas produtivas e vigorosas existentes em pomares. Nesta etapa, podem ser realizados testes de sanidade preliminares que darão maior confiabilidade na utilização do material propagativo. Este material será utilizado para obtenção das mudas que darão início às atividades de obtenção de plantas com alta sanidade. Geralmente podem ser selecionadas várias plantas, inclusive provenientes de locais diferentes, para a coleta de material propagativo e para a produção das mudas, as quais são obtidas pelo processo normal de enxertia. Um lote de mudas deve ser separado tendo por base as características visuais, como: ser vigorosa, apresentar ausência de patógenos e lesões causadas por insetos. No grupo de plantas selecionadas são realizados testes para diagnóstico das principais enfermidades que ocorrem no pessegueiro e na ameixeira e que podem ser transmitidas vegetativamente, como é o caso das viroses. São realizados testes sorológicos, testes com plantas indicadoras e avaliação por microscopia eletrônica.

Após esta etapa, é selecionado um lote de plantas escapes, geralmente contendo entre 10 e 15 indivíduos, que é mantido em condições de confinamento, ou seja, são plantadas em vasos com capacidade de 100 litros e mantidos sob telados cobertos. Este lote de plantas constituirá o conjunto de plantas básicas da cultivar que está sendo trabalhada.

Nos próximos dois ciclos vegetativos as plantas básicas são novamente indexadas para detecção de enfermidades que podem não ter sido diagnosticadas nos testes anteriores pois há situações em que o nível do inóculo é extremamente baixo não sendo possível detectá-lo pelos testes realizados anteriormente. Nestes casos, com o passar do tempo, a infecção torna-se generalizada e, portanto, mais facilmente diagnosticada. Raramente esta situação ocorre, entretanto sendo facilmente solucionada com a

eliminação da planta com problema, retirando-se o vaso em que ela está sendo mantida em telado. Quando isso ocorre, é aconselhável eliminar todas as mudas originadas de uma mesma matriz. Em casos em que todas as mudas têm origem de uma única matriz, mesmo ocorrendo alguma contaminação, é possível obter plantas saudáveis, pois pode ter sido coletado material propagativo de um local da planta ainda não contaminado. É aconselhável, entretanto, avaliar as plantas aparentemente saudáveis por mais alguns ciclos.

No quarto período vegetativo, em cada lote de plantas, é selecionada apenas uma planta de cada cultivar que se destaque, por sua aparência, entre as demais. Apenas desta planta serão produzidas novas mudas que constituirão o lote de matrizes com alta sanidade que fornecerão borbulhas com elevados padrões técnicos. Elas serão mantidas sob confinamento para fornecimento de material propagativo utilizado na estruturação de matrizeiros em viveiristas e entidades de pesquisas.

Periodicamente, de preferência anualmente, o lote de matrizes de alta sanidade deve ter sua sanidade avaliada.

Métodos de produção de mudas utilizados durante as etapas do processo de obtenção de plantas escapes

Durante o processo de obtenção de plantas escapes, existem duas etapas que exigem a produção de mudas. Há necessidade de produzir mudas para dar início ao trabalho de seleção de plantas com alta sanidade (processo de enxertia) e, posteriormente, há a necessidade de produzir mudas sem a utilização de porta-enxerto, que serão mantidas como fonte de material propagativo (alporquia ou enraizamento de estacas).

Na enxertia (Figura 2A), utilizada na primeira etapa do processo, são produzidas as mudas que serão trabalhadas para obtenção das plantas com alta sanidade. O processo de enxertia usado é o de gema viva, por ser o mais rápido e prático para a obtenção de mudas em grande escala. Esse tipo de enxertia é realizado, geralmente, no final da primavera, permitindo a produção de mudas padronizadas em apenas um ciclo vegetativo. Deve ser realizada o mais cedo possível, dando-se preferência ao final do mês de novembro ou ao início de dezembro, quando os porta-enxertos atingem em torno de 70 cm de altura e aproximadamente 6 milímetros de diâmetro.

Após a seleção das plantas localizadas em pomares, é colhido o material propagativo. Dos ramos coletados são utilizadas as gemas localizadas entre a base e a porção mediana. No processo de enxertia, após a limpeza da haste do porta-enxerto, faz-se uma incisão com o canivete de enxertia em forma de "T" invertido, à altura de 30 cm do solo. A borbulha é retirada do ramo na forma de um pequeno escudo de casca, com comprimento variável, tendo o lenho removido. Esse escudo é introduzido na incisão em forma de "T" invertido, sob a casca do porta-enxerto, com o auxílio do canivete de enxertia, cortando-se a porção do escudo que sobressaiu ao corte horizontal do "T", amarrando-a firmemente com fita de polietileno. Dessa maneira, assegura-se às plantas um bom desenvolvimento, obtendo-se mudas prontas em meados de julho (CASTRO et al., 2003).

Na segunda etapa do processo de seleção das plantas com alta sanidade, quando se escolhe apenas uma planta representativa do padrão genético da cultivar, embora a enxertia possa ser utilizada, é preferível utilizar outros métodos de propagação vegetativa, como o enraizamento de estacas ou a alporquia (mergulhia aérea), porque estes métodos permitem obter plantas que não entram em contato direto com o solo, melhorando a qualidade fitossanitária das mudas

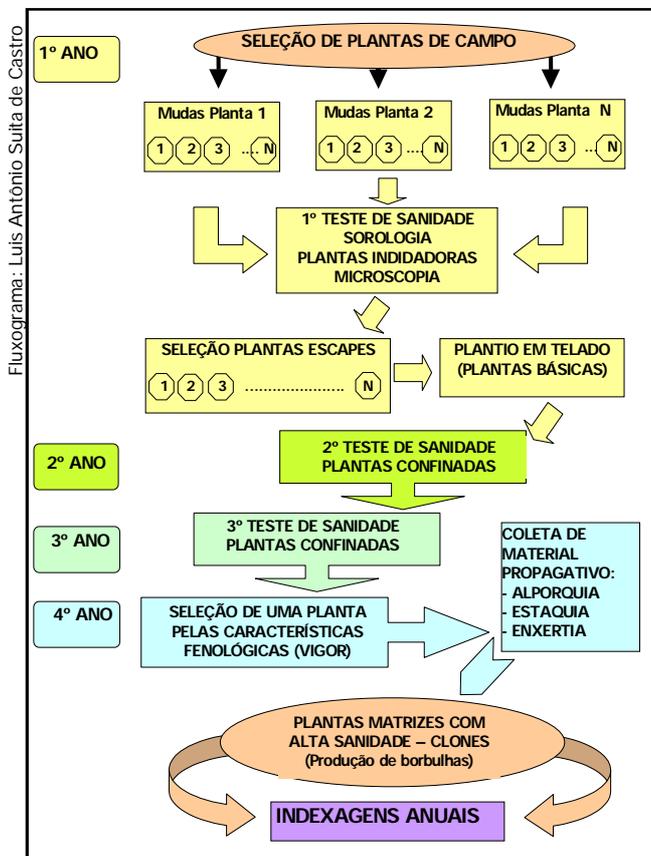


Figura 1. Esquema do processo de obtenção de plantas matrizes com alta sanidade pela seleção de plantas escapes.

que irão permanecer por longo tempo como doadoras de material propagativo de alta sanidade.

Para o desenvolvimento do processo de alporquia (Figura 2B) devem ser utilizados ramos lenhosos do último período vegetativo da planta de pessegueiro ou ameixeira selecionada. Os ramos não são removidos da plantas, apenas é feita a retirada de um anel da casca, com aproximadamente 1,0 - 1,5 centímetros de largura, que deve ser completamente removido com o auxílio de um canivete de enxertia. Sobre cada ferimento são colocadas quatro gotas de hormônio para enraizamento (ácido indolbutírico / 3000 ppm). Posteriormente, é colocado o substrato necessário para dar suporte às raízes que irão se desenvolver. Neste processo, podem ser utilizados diferentes tipos de materiais desde que sejam praticamente inertes e tenham boas características de aeração e manutenção de umidade, tais como areia e vermiculita, entre outros.

Nos trabalhos realizados tem sido utilizada como substrato, a vermiculita umedecida, colocada ao redor da lesão feita no ramo, sendo envolvida por um invólucro plástico nas dimensões de 10 x 20 cm, obtido a partir de saco plástico transparente com as extremidades abertas. Deve ser colocada após a amarração de uma das extremidades do tubo plástico ao ramo, abaixo do ferimento. Posteriormente, a extremidade superior do tubo também é amarrada ao ramo, visando criar um ambiente úmido e escuro ao redor da lesão.

O processo de separação da muda da planta mãe é realizado entre 45 e 90 dias, dependendo do estágio de desenvolvimento das raízes, o que depende da época em que o processo é realizado e das características genéticas das cultivares a serem multiplicadas. A alporquia normalmente tem sido realizada poucos dias antes do início da floração das plantas, ainda no estágio de dormência, pois o início da brotação estimula o desenvolvimento das raízes. Tem-se obtido, aproximadamente, 100% de enraizamento nos ramos em que se tem utilizado esta técnica (CASTRO e SILVEIRA, 2003).

Para realizar o enraizamento de estacas, os ramos são destacados das plantas sendo utilizada a porção mediana, descartando-se o ápice e a base, sendo padronizadas em um comprimento de aproximadamente 15cm (TONIETO et al., 1997). As estacas sofrem um corte transversal próximo a uma gema, na base, e em bisel na parte superior, além de duas lesões laterais de 1 cm em cada lado da base. Posteriormente a este preparo, as estacas são

tratadas com ácido indolbutírico (AIB) na forma líquida, nas concentrações de 1000 a 3000ppm. O tempo de imersão é de, aproximadamente, de 5 segundos e, após, as estacas são colocadas em caixas contendo substrato (Figura 2 C). A melhor época de coleta das estacas é em março, porque possuem maiores teores de carboidratos (FACHINELLO et al., 1994). Na prática, entretanto, este método de propagação, apesar de bastante pesquisado, tem mostrado resultados pouco satisfatórios, além de apresentar como inconveniente a necessidade de uma infra-estrutura adequada e de custo elevado (casa de vegetação).



Fotos: Luis Antonio Sultia de Castro

Figura 2. Métodos de produção de mudas utilizados durante as etapas do processo de obtenção de plantas escapes. Enxertia em “T” invertido (A), enraizamento de estacas lenhosas (B) e alporquia (C).

Principais patógenos transmitidos vegetativamente no pessegueiro e na ameixeira e que devem ser indexados para obtenção de plantas com alta sanidade

- *Xylella fastidiosa*: A “escaldadura das folhas da ameixeira” (Figura 3A) foi inicialmente relatada como virose por ser desconhecido o agente causal, sendo constatada na Argentina em 1935. Décadas mais tarde (1978), no Brasil, foram observadas bactérias no interior dos vasos do xilema em ameixeiras doentes. Considera-se que a escaldadura das folhas da ameixeira é nativa dos EUA, tendo sido introduzida na América do Sul com a remessa de mudas infectadas. Desde a constatação da existência da escaldadura das folhas da ameixeira no Brasil, houve acentuado declínio dos pomares das regiões produtoras do Sul do País. Suspeita-se que a doença esteja presente no Rio Grande do Sul desde a década de 50. A difusão da enfermidade dentro do pomar é completamente

irregular, havendo casos em que plantas enfermas permanecem longo tempo sem contagiar as sadias, sendo que o contágio geralmente ocorre entre plantações vizinhas, sendo que, em alguns pomares, entretanto, mesmo nessas condições de proximidade não se manifestam sintomas.

A transmissão por materiais propagativos constitui o principal modo de transmissão. Estacas, borbulhas e garfos disseminam a doença a curtas distâncias, enquanto que mudas produzidas de matrizes infectadas disseminam a doença a longas distâncias. Esta bactéria se constitui no patógeno mais agressivo encontrado nas regiões produtoras de ameixa no Brasil, porque invariavelmente, leva as plantas infectadas à morte. Considera-se de extrema importância o uso de mudas sadias, provenientes de matrizes indexadas.

- **Prune Dwarf Virus (PrDV):** Este vírus está associado a várias doenças economicamente importantes em pessegueiros e ameixeiras. Plantas infectadas por este vírus desenvolvem folhas estreitas e mais espessas que as normais. Os internós ficam dispostos em forma de roseta no início da primavera, adquirindo a forma normal no final desta estação. O agente causal dessa enfermidade pertence ao grupo ilarvirus, com partículas isométricas ou na forma de pequenos bacilos. Este vírus infecta um grande número de espécies de *Prunus* e pode ser transmitido, por inoculação, para várias espécies de plantas herbáceas. A disseminação ocorre por meio do pólen, da semente e, principalmente, pelo uso de material vegetal contaminado, durante a produção de mudas (DANIELS, et al., 1994).

- **Prunus Necrotic Ringspot Virus (PrNRV):** Várias espécies de *Prunus* podem ser hospedeiras do PrNRV. Alguns *strains* não induzem sintomas aparentes, entretanto, podem ser diagnosticados com o uso de plantas indicadoras, ou com testes sorológicos, principalmente o teste de ELISA. Outras variações desse vírus podem ocasionar lesões necróticas no primeiro ano, seguindo clorose crônica das folhas com necrose, deformações e maturação tardia de frutos. O agente causal inclui um complexo de vírus. É transmitido pelo pólen, podendo infectar sementes. Uma estratégia de controle consiste em evitar a introdução de materiais provenientes de locais onde o problema ocorre. Plantas enfermas devem ser imediatamente retiradas do pomar. Foram realizados levantamentos para determinar a incidência de *Ilarvirus* em pomares das principais cultivares de pessegueiro, em regiões produtoras do Rio Grande do Sul. Os dois vírus (PrDV e PrNRV) foram detectados

em todas as cultivares analisadas, sendo que, no total, 36,7% das plantas estavam infectadas (MACIEL et al., 2002).

- **Plum Line Pattern Ilarvirus (PIPV):** De acordo com dados de literatura, sua ocorrência tem sido descrita em países europeus e nos Estados Unidos da América, sendo normalmente transmitido mecanicamente entre cultivares de ameixeira. As características do agente causal dessa doença ainda não estão bem definidas. Em algumas cultivares, a sintomatologia inicia por linhas amarelas ou amarelo-esverdeado na primavera, evoluindo para o branco durante o verão. Muitas cultivares podem não apresentar sintomas aparentes. A sintomatologia é variável com a estirpe do vírus, com a cultivar e com o meio ambiente. Embora muitos ilarvirus sejam transmitidos pelo pólen e pela semente, até o momento, o único modo de transmissão conhecido é através da enxertia de material de propagação infectado. Sintomas de *Plum Line Pattern Virus* têm sido observados em pomares de ameixeira da cultivar Golden Japan localizados na região de Pelotas, Rio Grande do Sul (Figura 3B) (CASTRO, et al., 2008).

- **Plum Pox Virus (PPV):** Esta virose foi inicialmente relatada na Bulgária em 1918. Bastante conhecida pela denominação de "Sharca". Constitui-se em um problema de extrema severidade, principalmente para as culturas da ameixeira e do pessegueiro. Até o presente sua introdução não foi relatada nas regiões produtoras brasileiras. O *Plum Pox Virus* tem causado sérias perdas em pomares de ameixeira (principalmente *Prunus domestica*), pessegueiro e nectarineira. Os sintomas foliares em ameixeira consistem em manchas cloróticas verde-pálido, anéis e linhas irregulares podem ser visíveis a partir do início do verão. Frequentemente os sintomas são restritos a algumas poucas folhas por ramos. Plantas infectadas geralmente não apresentam redução no desenvolvimento e são difíceis de identificar. Os sintomas em frutos verdes podem ser observados pela ocorrência de manchas escuras espalhadas irregularmente sobre a superfície. Em frutos maduros se caracterizam pela presença de anéis de coloração contrastante com a da epiderme. É transmitido por afídeos (pulgões), sendo que seu diagnóstico pode ser realizado com o uso de plantas indicadoras e pelo teste imunológico ELISA. No Brasil, devido a não detecção dessa enfermidade, os principais modos de controle consistem em evitar a introdução de materiais não certificados e na utilização de sistemas quarentenários, mantidos por entidades governamentais (CASTRO, et al., 2008).

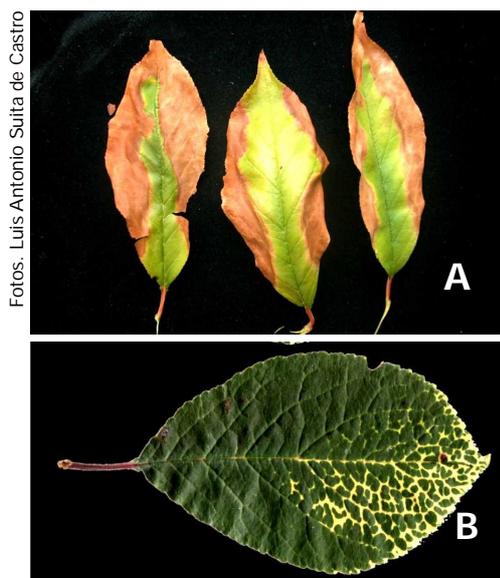


Figura 3. Sintomas de algumas enfermidades transmitidas vegetativamente em ameixeira: *Xylella fastidiosa* (A) e *Plum Line Pattern Virus* (B).

Testes de indexação realizados em pessegueiros e em ameixeiras para obtenção de plantas com alta sanidade

Vários métodos são rotineiramente utilizados na diagnose de doenças transmitidas vegetativamente. Na indexação das principais viroses e bacterioses, cujo agente causal é amplamente conhecido, o teste mais recomendado constitui-se no teste ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), pois permite diagnosticar a ocorrência dessas enfermidades com precisão e rapidez, inclusive em algumas viroses latentes, nos quais os sintomas não são visíveis na planta hospedeira (SUTULA, 1986). Para viroses em que não se dispõe de testes sorológicos, podem ser utilizadas técnicas de microscopia eletrônica e plantas indicadoras, que são processos mais demorados, mas que, por serem mais abrangentes, permitem avaliar um número maior de agente infecciosos.

Na sorologia o procedimento básico consiste no método ELISA (Figura 4A), seguindo-se o procedimento determinado por Clark e Adams (1977) e atualizações metodológicas específicas determinadas pelas empresas fornecedoras dos antissoros.

A indexação com plantas indicadoras consiste no diagnóstico visual ou associado a técnicas de microscopia para avaliação de agentes virais que causam infecções latentes em plantas cultivadas, como é o caso do pessegueiro e da ameixeira, mas que apresentam sintomas característicos que permitem sua identificação em outras plantas, denominadas indicadoras. É o sistema de diagnose mais abrangente pois tem como função o diagnóstico

de viroses que não são detectadas por outros métodos de rotina. Constitui-se em um processo trabalhoso e demorado podendo, no caso do uso de plantas indicadoras lenhosas, necessitar de até três anos para realização do diagnóstico.

Quando se utilizam plantas indicadoras herbáceas, como por exemplo o *Chenopodium quinoa* (Figura 4B), o diagnóstico é mais rápido, necessitando em torno de 30 a 45 dias. Entretanto, este procedimento necessita de infraestrutura de casa de vegetação e cuidados diários na manutenção das plantas. Os sintomas mais evidentes são os foliares, como mosaico (alternância de áreas verde-escuras e claras ou amareladas), necrose sistêmica, amarelecimento (clorose), clareamento das nervuras, manchas anulares, linhas necróticas, redução/encarquilhamento/enrolamento do limbo foliar. Manchas e lesões podem surgir nos ramos e, em casos severos, induzem a sua morte pelo anelamento causada pela fusão de lesões. Na planta como um todo podem ocorrer nanismo, declínio e, até mesmo, a morte.

Para análises de viroses em microscopia eletrônica de transmissão, pode ser utilizado o método *leaf dip*, que consiste em uma técnica relativamente simples utilizada para detecção de vírus de planta em preparações obtidas sem necessidade de cortes ultrafinos do tecido vegetal. O método foi introduzido por Johnson em 1951 e utiliza o exsudato do sistema vascular da planta para exame ao microscópio. Kitajima (1965) combinou o método de *leaf dip* com a contrastação negativa, obtendo excelentes resultados, permitindo a detecção de numerosos vírus isométricos e alongados (Figura 4C).

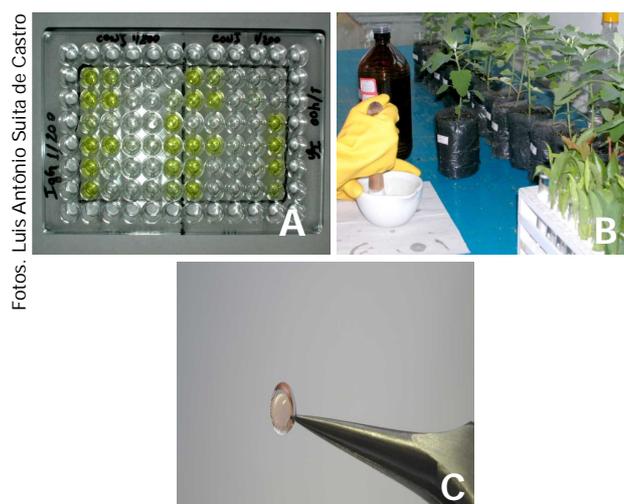


Figura 4. Testes de Indexação realizados no pessegueiro e ameixeira para obtenção de plantas com alta sanidade. Teste ELISA (A), inoculação em plantas indicadoras (B) e microscopia eletrônica - *leaf dip* (C).

Principais resultados obtidos:

- Ameixeira Stanley clone 21

Entre as ameixeiras do grupo europeu (*Prunus domestica*) destaca-se a cultivar Stanley. Foi desenvolvida em Nova York, por Richard Wellington, sendo cultivada comercialmente a partir de 1926. Resultou do cruzamento entre Agen x Grand Duk feito em 1912, sendo que a semente germinou em 1913 (BROOKS & OLMO, 1972). No Brasil, encontra-se apenas nas regiões frias do Sul do país, embora com grande potencial de produção. Dentre os produtos derivados desta fruta, a ameixa seca é o mais conhecido, sendo que o Brasil importa tudo que consome (10.000 t/ano). A região serrana (nordeste do Rio Grande do Sul) tem condições para cultivo da ameixeira européia.

O clone "Stanley C21" foi obtido a partir de plantas de campo introduzidas na antiga Estação Experimental de Pelotas, atual Campo Experimental de Cascata, e difundidas a partir de 1972 pelas regiões mais frias dos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Foi selecionado em avaliações periódicas realizadas durante sete anos consecutivos (2000 a 2007) sob condições de campo e de telados cobertos, pela resistência às principais enfermidades viróticas e bacterianas que ocorrem na ameixeira. A planta obtida, correspondente ao clone número 21 foi selecionada como planta padrão da cultivar, sendo denominada "Stanley C21" para diferenciar do material propagado que vem sendo utilizado pelos viveiristas, resultante de sucessivas multiplicações vegetativas sem controle de qualidade fitossanitárias. Este clone foi multiplicado para obtenção de plantas matrizes, responsáveis pela produção de material propagativo de alta sanidade. As plantas são mantidas em sistema confinado, em telados cobertos, construídos de forma a respeitar rigorosamente normas técnicas pré-estabelecidas (Figura 5A).

- Pessegueiro Bonão clone 12

Cultivar originada pelo cruzamento realizado em 1995, entre a seleção Conserva 594 e a cv. Pepita. Esta cultivar é vigorosa e produtiva, com plantas de crescimento semi-vertical e com muito boa adaptação a condições de inverno ameno. A plena floração ocorre em geral entre a segunda e terceira semanas de julho e a colheita inicia no final de outubro ou início de novembro. As frutas apresentam forma redonda cônica, podendo apresentar sutura levemente

desenvolvida; o tamanho é médio a grande e o peso médio é, geralmente, superior a 100 gramas. A polpa é amarela assim como a película. Adapta-se em áreas com cerca de 200 horas de frio hibernal.

Para obter matrizes de alta sanidade, foi utilizada uma planta de campo da cultivar Bonão durante o processo de desenvolvimento da cultivar, ainda com a denominação de "Conserva 1124", localizada em um pomar da Embrapa Clima Temperado (Pelotas/RS), durante o ano de 2003. Foi realizada a enxertia de gema, sobre porta-enxertos de pessegueiro. Um grupo de mudas foi selecionado levando-se em consideração suas características visuais, sendo plantado sob condições de telado coberto. As plantas foram mantidas em vasos plásticos individuais, com capacidade de 100 litros.

Um grupo de 12 mudas que apresentavam o mesmo padrão fenológico e, conseqüentemente, idêntico geneticamente à planta padrão da cultivar Bonão, após vários testes de avaliações fitossanitárias, foi selecionado para compor o grupo de matrizes do borbulheiro de prunoídeas localizado na Embrapa Clima Temperado. Desde o primeiro ano de desenvolvimento, as mudas foram indexadas em relação às principais doenças transmitidas vegetativamente, selecionando-se plantas "escapes" à presença dos principais organismos patogênicos que infectam o pessegueiro. Atualmente, uma parte dos clones selecionados (12 plantas) é mantida em sistema confinado, em telados cobertos (Figura 5B).



Fotos. Luis Antônio Suíza de Castro

Figura 5. Plantas de ameixeira cultivar Stanley-C21 e plantas de pessegueiro cultivar Bonão-C12 selecionadas com alta sanidade, mantidas sob condições de confinamento.

Considerações gerais

- Outras técnicas para indexagem de plantas podem ser utilizadas desde que estejam disponíveis e acessíveis. As técnicas de biologia molecular apresentaram grande desenvolvimento a partir da década de 80 sendo que o primeiro fitopatógeno estudado no Brasil utilizando PCR foi um vírus, em 1992 (BRIOSO et al., 2001). Inicialmente é obtido um extrato da planta infectada e feita uma purificação na qual as partículas do vírus podem então ser "capturadas", com a utilização de anticorpos específicos. O DNA das partículas virais capturadas pelos anticorpos pode ser amplificado. Esta técnica tem diversas vantagens sobre outros métodos de detecção, pois utiliza uma pequena quantidade de amostras de tecido, permitindo a detecção do vírus mesmo em baixas concentrações e em amostras guardadas por longos períodos. Possibilitando ainda, além da detecção, uma caracterização suplementar do vírus e a clonagem completa do genoma viral para estudos de infectividade (ZERBINI et al., 2001). Infelizmente esta técnica ainda está pouco difundida para as viroses que ocorrem no pessegueiro e na ameixeira, dificultando seu uso rotineiro. Segundo Fajardo et al. 2003, as principais limitações seriam em relação aos custos e à praticidade.

- Em alguns casos não é possível obter plantas de alta sanidade por seleção de escapes. Várias tentativas foram realizadas em relação a cultivar de pessegueiro Aldrichi, mas não houve sucesso na obtenção de plantas isentas de **Prunus Necrotic Ringspot Virus** e **Prune Dwarf Virus**. Todas as plantas avaliadas apresentaram infecção por um dos vírus ou por ambos. É provável que este resultado tenha ocorrido devido ao "Aldrichi" ser muito antigo e ter sido utilizado como porta-enxerto por algumas décadas. Como atualmente esta cultivar quase não é utilizada, as plantas existentes estão há muito tempo expostas às condições ambientais, e, conseqüentemente, aos agentes transmissores de viroses.

- O processo de seleção de plantas escapes pode ser aperfeiçoado e, inclusive, utilizado para outras culturas. É um procedimento que embora demorado, permite melhorar consideravelmente as condições fitossanitárias dos pomares brasileiros. Em muitos casos é possível liberar material propagativo após a primeira avaliação fitossanitária das plantas pois, com certeza, o material estará em melhores condições que a maioria das plantas matrizes utilizadas pelos produtores de mudas. Atualmente as mudas de ameixeira e pessegueiro são produzidas praticamente sem nenhum controle sobre os microorganismos

transmitidos vegetativamente o que pode ocasionar sérios problemas após a instalação do pomar. No caso da bactéria *Xylella fastidiosa* o problema é extremamente sério porque os sintomas visuais da enfermidade só aparecem após o terceiro ciclo vegetativo das plantas de ameixeira, reduzindo a produtividade e a vida útil do pomar, sem que qualquer controle possa ser realizado. O único controle recomendado atualmente para doenças causadas por vírus e bactérias consiste no uso de mudas comprovadamente sadias. No caso da seleção de plantas escapes, a execução de todas as etapas descritas permite assegurar que o material propagativo que está sendo utilizado na produção de mudas realmente está isento dos principais patógenos que ocasionam problemas para determinada cultura.

Referências

- ALVES, C.; OLIVEIRA, J. R.; REIS, E. S.; CORRÊA, R. M.; SOUZA, J.; SILVA, J. C. DE O.; PAULA, J. C. R. de; RODRIGUES, L. H. F.; SOUZA, M. A. de; MENDONÇA, M. R. de. **A Cultura de tecidos na agricultura**. In: JORNADA CIENTÍFICA, 1.; FIPA DO CEFET Bambuí, 6. Disponível em: < http://www.cefetbambui.edu.br/str/artigos_aprovados/Ci%C3%A4ncias%20Agrarias/14-PT-12.pdf > . Acesso em: 16 out. 2009.
- BRIOSO, P. S. T.; POZZER, L.; MONTANO, H. G. , PIMENTEL, J. P. Uso atual e futuro da Biologia Molecular na Fitopatologia. In: FERNANDES, J. M.; PRESTES, A. M.; PICININI, E. C. (Ed.). **Revisão anual de patologia de plantas**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2001. v. 9, p. 79-118.
- BROOKS, M. R.; OLMO, H. P. **Register of new fruit & nut varieties**. 2. ed. Berkeley: University of California Press, 1972. 708 p.
- CASTRO, L. A. S. de.; NAKASU, B. H.; SILVEIRA, C. A. P., ABRANTES, V. L., ROCHA, N. E. M. **Stanley C21: ameixeira testada** (*Prunus domestica*). Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. 21 p. (Embrapa Clima Temperado. Circular Técnica, 69).
- CASTRO, L. A. S. de.; RASEIRA, A.; FORTES, G. R. L.; FINARDI, N. L. Produção de mudas. In: CASTRO, L. A. S. de. (Ed). **Ameixa: produção**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado; Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p. 34-45. (Frutas do Brasil, 43).
- CASTRO, L. A. S. de; SILVEIRA, C. A. P. Propagação vegetativa do pessegueiro por alporquia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 368-370. 2003.

CHALFUN, N. N. J.; HOFFMANN, A. Propagação do pessegueiro e da ameixeira. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 18, n. 189, p. 23-29. 1997.

CLARK, M. F.; ADAMS, A. N. Characteristics of microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. **Journal of General Virology**, Cambridge, v. 34, p. 475-483. 1977.

COUTO, M.; OLIVEIRA, R. P.de; FORTES, G. R. de L. Multiplicação in vitro dos porta-enxertos de prunus sp. "Barrier" e Cadaman". **Revista Brasileira de fruticultura**. Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 5-7. abr. 2004.

DANIELS, J.; UYEMOTO, J. K.; CASTRO, L. A. S. de; CARVALHO, T. C. P. Ocorrência do vírus do nanismo da ameixeira (PDV) em pessegueiros no Rio Grande do Sul. **Horti Sul**, Pelotas. v. 3, p. 16-20, 1994.

FACHINELLO, J. C., HOFFMANN, A., NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Pelotas: Editora e Gráfica UFPel, 1994. 179 p.

FAJARDO, T. V. M., MACIEL, S. da C., DANIELS, J. **Doenças virais do pessegueiro**. In: HOFFMANN, A.; BAVARESCO, A.; CAMPOS, A. D.; GOMES, C. B.; GIRARDI, C. L.; ROMBALDI, C. V.; ARIOLI, C. J.; HERTER, F. G.; MELO, G. W.; NACHTIGAL, J. C.; FREIRE, J. de M.; BERNARDI, J.; MADAIL, J. C. M.; TONETTO, J.; PROTAS, J. F. da; DANIELS, J.; GARRIDO, L. da R.; BOTTON, M.; WREGGE, M.; RASEIRA, M. do C. B.; SÔNEGO, O. R.; SIMONETTO, P. R.; SCOZ, P. L.; MACIEL, S. da C.; FAJARDO, T. V. M. **Sistema de produção de pêssego de mesa na região da serra gaúcha**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. (Embrapa Uva e Vinho. Sistemas de Produção, 3). Disponível em: < <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pesseg/PessegodeMesaRegiaoSerraGaucha/index.htm> > . Acesso em: 26 out. 2009.

KITAJIMA, E. W. A rapid method to detect particles of some spherical plant viruses in fresh preparations. **Journal of Electron Microscopy**, Oxford. v. 14, n. 2, p. 119-121. 1965.

MACIEL, S. C.; DANIELS, J.; FAJARDO, T. V. M. Incidência de Ilarvirus em pomares de pessegueiro no Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, p. 20, 2002. Suplemento.

MEIJNEKE, C. A. R., OOSTEN, H. J.; PERRBOOM, H. Growth, yield and fruit quality of virus-infected and virus-free Golden Delicious apple trees. **Acta Horticulturae**. The Hague, v. 44, p. 209-212, 1982.

PARFITT, D. E.; ALMEHDI, A. A. In vitro propagation of peach: II. A medium for in vitro multiplication of 56 peach cultivars. **Fruit Varieties Journal**, Urbana, v. 40, n. 2, p. 46-47, 1986.

SANTOS FILHO, H. P.; NICKEL, O. Microenxertia e indexação. Bases científicas para obtenção de clones de citrus livres de viroses. 1993, Brasília, DF. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL, 1., 1993, Brasília, DF. **Programas e resumos**. Brasília, DF: Embrapa Cenargen, 1993. p. 12-15.

STOUFER, R. F.; FRIDLUND, P. R. Indexing using wood indicators. In: FRIDLUND, P. R. (Ed.). Virus and virus and viruslike diseases of pome fruits and simulating noninfectious disorders. Pullman: Washington State University. Cooperative Extension, 1989. p. 255-264.

SUTULA, C. L. Innovative testing products for food and agricultures. Mishawaka: AGDIA, 1986. 12 p.

TONIETTO, A.; DUTRA, L. F.; KERSTEN, E. Influencia do ácido indolbutírico e ethefon no enraizamento de estacas de pessegueiro. (Prunus persica (L.) Batsch). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 27, n. 4, p. 567-569, 1997.

ZERBINI, F.M.; AMBROZEVÍCIUS, L.P.; NAGATA, A.K.I. Diagnose molecular de fitoviroses. In: ALMEIDA, A.M.R.; LIMA, J.A.A. **Princípios e técnicas de diagnose aplicados em fitovirologia**. Londrina: Embrapa Soja; Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2001. p. 95-124

Circular Técnica, 84

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

GOVERNO
FEDERAL

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Clima Temperado

Endereço: BR 392, Km 78, Caixa Postal 403
Pelotas, RS - CEP 96001-970

Fone: (0xx53) 3275-8100

Fax: (0xx53) 3275-8221

E-mail: www.cpact.embrapa.br
sac@cpact.embrapa.br

1ª edição

1ª impressão (2009) 50 Exempla-

Comitê de publicações

Presidente: Ariano Martins de Magalhães Júnior

Secretária- Executiva: Joseane Mary Lopes Garcia

Membros: José Carlos Leite Reis, Ana Paula Schneid Afonso, Giovanni Theisen, Luis Antônio Suita de Castro, Flávio Luiz Carpena Carvalho, Christiane Rodrigues Congro Bertoldi e Regina das Graças Vasconcelos dos Santos

Expediente

Supervisor editorial: Antônio Luiz Oliveira Heberlé

Revisão de texto: Marcos de Oliveira Treptow

Editoração eletrônica: Sérgio Ilmar Vergara dos Santos