

Utilização da biotecnologia para a produção de castanheiros melhorados.

Do laboratório ao campo

Apresentam-se os resultados do programa de melhoramento genético de castanheiro, iniciado pelo INIAV em 2006, a partir do qual foram selecionados novos genótipos melhorados, para a resistência à doença da tinta, para utilização como porta-enxertos (NewCastRootstocks). Os NewCastRootstocks serão lançados no mercado na campanha de 2020/2021.

Belén Colavolpe, Andreia Amaral, Patrícia Fernandes e Rita Lourenço Costa . INIAV, I.P.



Daniela Balonas, Maria Serra e António Pereira
Plantalegre – Produção e Comércio de Plantas



PlantAlegre

O castanheiro europeu, *Castanea sativa* Mill, é uma espécie de grande importância económica nas áreas montanhosas no Sudoeste Europeu. Trata-se de uma espécie folhosa, que combina aptidão florestal e frutícola. Em Portugal, a espécie é cultivada principalmente para a produção de castanha, sendo as regiões de Trás-os-Montes e Beira Alta onde se encontra a maior área de distribuição. A produção do fruto diminuiu consideravelmente na Europa, durante o século XX, devido à suscetibilidade do castanheiro europeu a várias doenças. A doença da tinta é a maior ameaça para a espécie e a principal responsável pela baixa produtividade dos sotos nacionais. A espécie *Phytophthora cinnamomi* Rands é o agente causal da doença da tinta. Este oomiceta inicia o processo de infeção na raiz, provocando a sua podridão, em resultado da degradação das camadas celulares designadas por córtex e câmbio vascular e consequente aspeto negro, daí advindo o nome da doença (tinta). A morte da árvore ocorre devido ao bloqueio do fluxo de água e nutrientes, o que lhe confere o aspeto de secura generalizada. A única forma de ultrapassar esta ameaça é a seleção e produção de material vegetal melhorado, com resistência

comprovada a *P. cinnamomi*, e adaptado às atuais condições de clima.

Programa de Melhoramento Genético

Com vista a atingir este objetivo, o INIAV iniciou, em 2006, um programa de melhoramento genético, baseado em cruzamentos controlados entre a espécie europeia (*Castanea sativa* Mill), muito sensível ao agente patogénico, e as espécies asiáticas, resistentes à tinta e ao cancro, respetivamente *Castanea crenata* Siebold & Zucc e *C. mollissima* Blume (Costa *et al.*, 2011).

Os cruzamentos controlados iniciam-se com o isolamento das flores femininas do progenitor sensível (castanheiro europeu), utilizando sacos de papel poroso. No início da deiscência do pólen, os amentilhos dos progenitores masculinos (castanheiros asiáticos) são colhidos e secos. Quando as flores femininas atingem a plena receptividade são polinizadas. Para garantir que o processo ocorra com elevada taxa de sucesso, aconselha-se a polinização das mesmas flores várias vezes. Depois da polinização, os sacos são selados e, ao fim de 15 dias, substituem-se por sacos de rede, permanecendo na árvore até à altura de colheita dos frutos, para garantir que, as castanhas que resultaram dos cruzamentos, não caiam no chão. As castanhas são germinadas em ambiente apropriado e a nova descendência é selecionada, pela sua sobrevivência, após inoculação com o agente patogénico.

Micropropagação do castanheiro

Com os avanços da biotecnologia, têm-se desenvolvido técnicas, como a cultura de

tecidos vegetais *in vitro* (também conhecida como micropropagação), que permitem que determinado genótipo seja multiplicado, mantendo a identidade genética da planta de origem. Essas técnicas permitem propagar em larga escala (clonar) os novos genótipos, selecionados do programa de melhoramento genético. A cultura de tecidos vegetais constitui um método biotecnológico reconhecido pelos ótimos resultados alcançados em várias culturas, nomeadamente, pela produção de plantas uniformes, livres de vírus e outros patógenos, com velocidade superior de crescimento, em relação aos métodos convencionais, e com sistemas radiculares mais eficientes, o que conduz a uma melhor adaptação e maior crescimento quando transferidas para o campo. Possibilita também a produção de um grande número de plantas, em menos tempo e espaço, bem como produção contínua ao longo do ano, sendo uma mais-valia para as espécies de folha caduca, como é o caso do castanheiro, que possuem um período de repouso vegetativo.

Este processo inicia-se a partir de um pequeno explante, como, por exemplo, um gomo axilar (segmento nodal) de um rebento do ano. O mecanismo de propagação é possível através de células indiferenciadas, existentes em meristemas do explante original. Estas células possuem a capacidade de se diferenciar em diferentes tecidos (caule, folhas, etc.), formando novas plantas. A este fenómeno é dado o nome de totipotência.

A primeira fase deste processo é designada por “estabelecimento”. Nesta etapa são utilizados os segmentos nodais e os ápices dos castanheiros resistentes à doença da tinta.

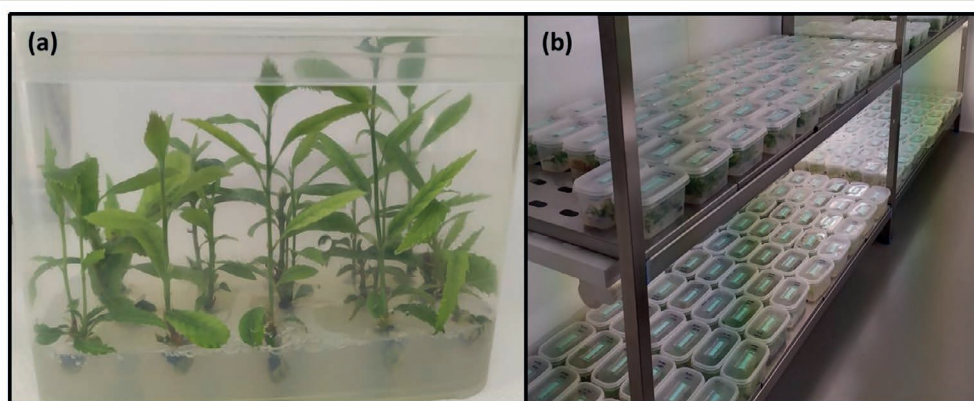


Figura 1 – Micropropagação e castanheiros melhorados (a). Câmaras de crescimento com plantas em condições controladas (b)

Estes tecidos são desinfetados, dentro da câmara de fluxo laminar, no laboratório, em condições estéreis e colocados em tubos de ensaio ou caixas, contendo meio nutritivo e reguladores de crescimento (hormonas), do grupo das citocininas. Quando colocadas *in vitro*, as plantas passam a crescer em condições heterotróficas. Após o estabelecimento, segue-se a fase de multiplicação das plantas já estabelecidas. Esta manutenção consiste na transferência dos novos segmentos nodais para meio de cultura fresco. Este processo é efetuado de uma forma cíclica, com intervalos de 6 a 8 semanas. A terceira fase do processo *in vitro* é o alongamento. As culturas *in vitro* são mantidas em câmaras de crescimento com condições controladas, nomeadamente um fotoperíodo de 16 h (luz) - 8 h (escuro), com lâmpadas fluorescentes brancas, e uma temperatura média de 23 °C (Fig. 1).

Quando as plantas atingem uma altura média de 5 cm, aproximadamente, são transferidas para um meio de cultura com carvão ativado, durante 7 dias, cujo objetivo é promover uma desintoxicação das hormonas da fase anterior do ciclo de micropropagação, antagónicas das hormonas de enraizamento, a etapa seguinte. Segue-se o enraizamento, onde são induzidas raízes através da utilização de uma hormona do grupo das auxinas, e ulterior aclimatização a condições *ex vitro* (fora das caixas de cultura). A aclimatização consiste na adaptação gradual das plântulas a condições exteriores, de menor humidade relativa e de autotrofia, bem como no controle dos estomas (Fig. 2).

Boas práticas agrícolas para a instalação de um souto

Para além da qualidade do material vegetal, requisito fundamental para a instalação de

um souto com boa produtividade no futuro, a preparação e escolha do terreno é de extrema importância também. O local de plantação do novo souto deverá ter uma altitude entre 400 e 900 metros, evitando a exposição solar a sul, que pode provocar queimaduras no verão, potenciando a entrada de agentes patogénicos nas feridas, como, por exemplo, *Cryphonectria parasitica* (Murr) Barr., agente causal do cancro do castanheiro. O solo deve ser solto, bem drenado, com profundidade superior a 40 cm, rico em matéria orgânica e ligeiramente ácido (pH ideal de 5,5). Antes da plantação, o terreno deve ser preparado com tarefas como a desmatização, ripagem, adubação de fundo, sistema de drenagem, incorporação de matéria orgânica e nivelamento do terre-

no. Segue-se a plantação, estabelecem-se os compassos (sendo 8 m x 8 m o mais comum atualmente) e o traçado de plantação (linhas de norte para sul nos terrenos planos, e seguindo as curvas de nível nos terrenos com declive). Colocam-se as estacas para assinalar os locais de plantação, segue-se a abertura das covas (1 x 1 m; profundidade de 40 cm) e a colocação das plantas em simultâneo com a adubação de cobertura (fósforo e potássio). Para finalizar, devem ser colocados tutores de madeira, protetores e a instalação de um sistema de rega, preferencialmente gota a gota.

Uma boa manutenção do souto é crucial para uma boa produtividade. A poda, nos primeiros 5 anos, deve ser reduzida ao mínimo, retirar só os ramos mal inseridos, periodicamente deve ser feito o controlo de infestantes, bem como o controle de pragas e doenças e as podas sanitárias necessárias.

Campo de ensaio

A título de exemplo, apresentamos o campo de ensaio instalado pelo INIAV, no âmbito do projeto ALT20-03-0246-FEDER-000011 - NEW Cast Rootstocks. O campo localiza-se na Unidade de Experimentação do castanheiro, em São Salvador da Aramenha, Marvão, e foi instalado em janeiro de 2018. Nesse campo foram plantadas 5 novas variedades de porta-enxertos híbridos, sele-



Figura 2 – Plantas de castanheiro em processo de aclimatização na Unidade de Experimentação do Castanheiro em Marvão



Figura 3 – Desenvolvimento da mesma planta de castanheiro com 1 ano (a) e 2 anos (b) de enxertia, em processo de avaliação da performance em campo

cionados do programa de melhoramento genético (NewCastRootstocks), bem como 2 híbridos existentes no mercado, e a espécie *C. sativa* (suscetível à doença da tinta). Neste campo experimental é avaliada

a performance dos novos porta-enxertos, comparativamente com as outras variedades, no que diz respeito à taxa de sucesso de plantação, compatibilidade de enxertia com as principais variedades de castanha,

suscetibilidade a pragas e doenças e produtividade, em função de diferentes dotações de rega (Figura 3).

Nota final

Em resumo, o programa de melhoramento genético em curso no INIAV, para a resistência à doença da tinta do castanheiro, conjugado com a biotecnologia vegetal, permitiu a seleção e produção de novos genótipos melhorados de castanheiro, resistentes a *P. cinnamomi*, para utilização como porta-enxertos, com compatibilidade de enxertia com variedades de castanha e com vigor vegetativo, constituindo uma mais-valia para o aumento da produtividade média dos soutos portugueses, das atuais 1 tonelada/hectare para 3 toneladas/hectare. Na figura 4 apresentam-se as diferentes etapas do programa de investigação em curso, que possibilitou a seleção e propagação dos novos genótipos melhorados, NewCastRootstocks, que entrarão no mercado na campanha de 2020/2021.

Referência

Costa, R.; Bragança, H.; Machado, H. (2011). Os últimos 75 anos de investigação para o melhoramento do castanheiro em Portugal. *Agrorural - Contributos Científicos*, 915-926.

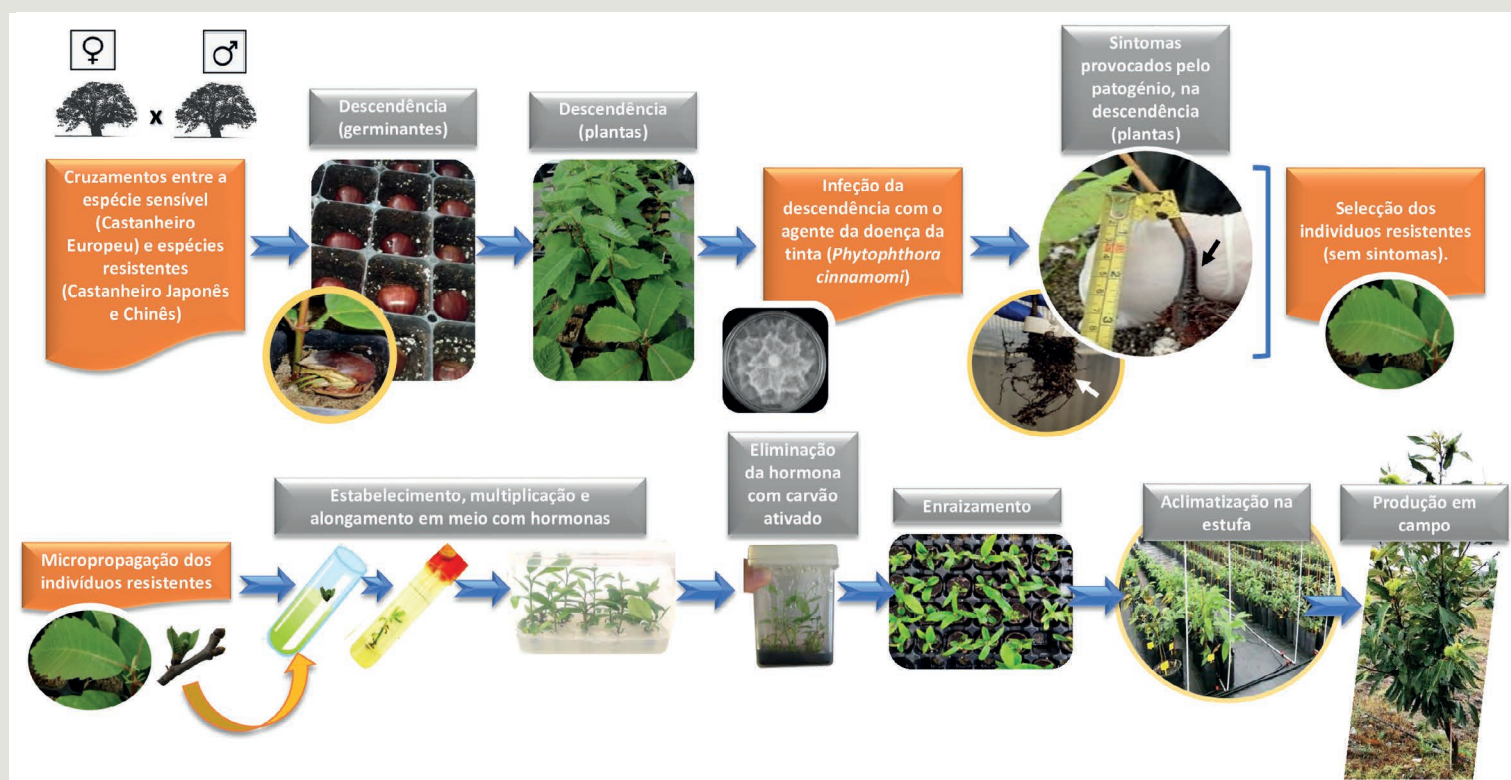


Figura 4 – Diferentes etapas do programa de investigação em curso no INIAV, para a resistência à doença da tinta do castanheiro