

## Notas Científicas

### Glicosídeos cianogênicos e compatibilidade de enxertia em pereiras asiáticas enxertadas sobre *Pyrus calleryana* e *P. betulifolia*

Ivan dos Santos Pereira<sup>(1)</sup>, José Francisco Martins Pereira<sup>(1)</sup>, Ângela Diniz Campos<sup>(1)</sup>, José Luiz Petri<sup>(2)</sup> e Marcelo Couto<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Embrapa Clima Temperado, BR-392, Km 78, Caixa Postal 403, Monte Bonito, CEP 96010-971 Pelotas, RS, Brasil. E-mail: ivanspereira@gmail.com, jose\_fm.pereira@embrapa.br, angela.campos@embrapa.br <sup>(2)</sup>Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina, Estação Experimental de Caçador, Rua Abílio Franco, nº 1.500, Bom Sucesso, CEP 89500-000 Caçador, SC, Brasil. E-mail: petri@epagri.sc.gov.br, marcelocouto@epagri.sc.gov.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar os níveis dos glicosídeos cianogênicos amigdalina e prunasina em 13 cultivares de pereiras asiáticas (*Pyrus pyrifolia*) enxertadas sobre *P. calleryana* e *P. betulifolia*, bem como verificar os seus efeitos sobre a compatibilidade de enxertia. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com três repetições. Foram avaliadas as cultivares: Ya li, Shinsui, Oku Sankichi, Hakucho, Nitaka, Shinseiki, Suisei, Choujuouro, Nijisseiki, Kousui, Housui, Kikusui e Hakkou. Os glicosídeos cianogênicos não tiveram influência na compatibilidade de enxertia e no teor de clorofila das combinações entre as cultivares e os porta-enxertos. A concentração de glicosídeos cianogênicos não se mostra um marcador eficiente da incompatibilidade de enxertia entre as combinações estudadas.

Termos para indexação: *Pyrus pyrifolia*, amigdalina, pereira japonesa, porta-enxerto, prunasina.

#### Cyanogenic glycosides and graft compatibility of Asian pear grafted onto *Pyrus calleryana* and *P. betulifolia*

Abstract – The objective of this work was to evaluate the levels of the cyanogenic glycosides amygdalin and prunasin in 13 Asian pear cultivars (*Pyrus pyrifolia*) grafted onto *P. calleryana* and *P. betulifolia*, as well as to verify their effects on graft compatibility. The experimental design was completely randomized with three replicates. The evaluated cultivars were: Ya li, Shinsui, Oku Sankichi, Hakucho, Nitaka, Shinseiki, Suisei, Choujuouro, Nijisseiki, Kousui, Housui, Kikusui, and Hakkou. The cyanogenic glycosides had no influence on graft compatibility and on the chlorophyll content of the combinations between cultivars and rootstocks. The concentration of cyanogenic glycosides is not an effective marker of graft incompatibility among the studied combinations.

Index terms: *Pyrus pyrifolia*, amygdalin, Japanese pear, rootstock, prunasin.

A produção de peras no Brasil é estimada em 20 mil toneladas, em área de 1.700 ha, contudo, o consumo é oito vezes esse volume, o que torna o País um dos maiores importadores mundiais da fruta (Bettiol Neto et al., 2014). Entre os principais fatores que contribuem para a baixa produção nacional de peras, está a falta de informações sobre a adaptação dos diferentes porta-enxertos às condições de solo e clima, e sobre o efeito da interação entre cultivar-copa e porta-enxertos nos principais componentes produtivos (Faoro & Orth, 2010; Pasa et al., 2011). No caso das pereiras asiáticas [*Pyrus pyrifolia* (Burm.) Nak.], os porta-enxertos normalmente utilizados também são do gênero *Pyrus*,

uma vez que os marmelos (*Cydonia oblonga* Mill.) têm apresentado problemas de afinidade com diversas cultivares asiáticas (Botelho et al., 2010).

A incompatibilidade de enxertia é caracterizada pelo desenvolvimento anormal do enxerto, em razão de diferenças anatômicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares, o que resulta em prejuízo visível ou não à união do enxerto, além de crescimento vegetativo retardado, baixa produtividade e, em casos severos, morte da planta (Nocito et al., 2010; Pina et al., 2012; Pereira et al., 2014). Alguns autores atribuem a incompatibilidade entre pereira e marmeleiro à liberação de cianeto na interface do enxerto (Gur

et al., 1968; Moore, 1986; Nocito et al., 2010), processo conhecido como cianogênese e que ocorre pela hidrólise de glicosídeos cianogênicos. Assim, a concentração de glicosídeos cianogênicos seria um marcador bioquímico potencial da incompatibilidade de enxertia entre determinadas espécies.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os níveis dos glicosídeos cianogênicos amigdalina e prunasina em 13 cultivares de pereiras asiáticas enxertadas sobre *Pyrus calleryana* (Decne.) e *P. betulifolia* (Bnge), bem como verificar os seus efeitos sobre a compatibilidade de enxertia.

O experimento foi desenvolvido em pomar localizado no Município de Caçador, SC. A região apresenta clima do tipo Cfb, segundo a classificação de Koeppen, com temperatura média anual de 16,5°C, precipitação de 1.655 mm e umidade relativa de 77,9%. O solo é classificado como Latossolo Bruno Húmico distrófico (Santos et al., 2006). O pomar, com 20 anos de idade, foi implantado em espaçamento de 5,0x3,0 m e foi conduzido de acordo com o recomendado para pereira japonesa.

No período compreendido entre janeiro de 2012 e fevereiro de 2014, foram estudadas as combinações entre as cultivares Ya li, Shinsui, Oku Sankichi, Hakucho, Nitaka, Shinseiki, Suisei, Choujuouro, Nijisseiki, Kousui, Housui, Kikusui e Hakkou, e os porta-enxertos *P. calleryana* e *P. betulifolia*. As avaliações consistiram da determinação da concentração dos glicosídeos cianogênicos (GCs) amigdalina e prunasina, do índice de clorofila total e da compatibilidade de enxertia.

A amostragem para determinação dos GCs e a avaliação do teor de clorofila nas folhas foram realizadas no início do inverno, em 4/7/2012. A concentração dos GCs foi determinada nos tecidos da casca da cultivar, a 10 cm acima da união, e do porta-enxerto, a 10 cm abaixo da união, das 26 combinações estudadas. As análises foram realizadas por “high performance liquid chromatography” (HPLC). A extração foi feita em 500 mg de amostra liofilizada, 8,0 mL de metanol e 2.000 mg de carvão ativado, sob agitação durante 16 horas. Posteriormente, foi realizada centrifugação a 2.500 g, por 20 min, e filtragem do sobrenadante, em que 20 µL foram utilizados para análise. Para as determinações, empregou-se coluna analítica Inertsil ODS-3 (150x4,6 mm, 4,0 µm) (GL Sciences Inc., Torrance, CA, EUA). A fase móvel foi água-metanol

(60:40, v/v) com fluxo de 1,3 mL min<sup>-1</sup> e detecção UV a 254 nm. Os resultados foram expressos em mg g<sup>-1</sup> do GC em base seca. O teor de clorofila total foi estimado com auxílio de clorofilômetro, modelo clorofiLOG (Falker Automação Agrícola Ltda., Porto Alegre, RS), por meio de 20 folhas por unidade experimental, localizadas no terço médio das plantas. Foram consideradas compatíveis as plantas com desenvolvimento normal da copa e do porta-enxerto, com boa união no ponto de enxertia, e incompatíveis, as combinações totalmente mortas ou com morte ou declínio de um dos componentes do enxerto. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, e cada unidade experimental foi constituída por cinco plantas, com 26 tratamentos (combinações). Os resultados foram submetidos à análise de variância, e as variáveis com diferenças significativas foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Ao se comparar os níveis de amigdalina na cultivar, verificou-se a formação de cinco grupos (Tabela 1). O grupo que apresentou maior teor de amigdalina foi composto apenas pela combinação 'Suisei'/*P. calleryana*. Já o grupo com menor teor foi formado pelas combinações: 'Hakucho'/*P. betulifolia*, 'Shinsui'/*P. betulifolia*, 'Oku Sankichi'/*P. betulifolia*, 'Ya li'/*P. betulifolia*, 'Shinsui'/*P. calleryana* e 'Hakucho'/*P. calleryana*. Quanto às concentrações de prunasina na cultivar, foram observados cinco grupos, em que o grupo de maior concentração foi constituído somente pela combinação 'Oku Sankichi'/*P. betulifolia*, e o de menor, por 'Nitaka'/*P. betulifolia* e 'Nitaka'/*P. calleryana*. A influência do porta-enxerto sobre o teor de GCs na cultivar foi relatada por Gur et al. (1968), que observaram a translocação de GCs do porta-enxerto para a cultivar em combinações de pereira sobre marmeleiro, o que desencadeou problemas de compatibilidade. No presente trabalho, embora tenham ocorrido alterações nos níveis de GCs na cultivar, em razão do porta-enxerto, não foram constatados problemas de compatibilidade, talvez porque os teores não tenham atingido níveis tóxicos. Em relação aos teores de GCs no porta-enxerto, houve diferenças apenas para amigdalina, com a composição de quatro grupos, em que as combinações 'Ya li'/*P. betulifolia*, 'Choujuouro'/*P. betulifolia* e 'Shinsui'/*P. betulifolia* foram as de maior concentração. Não houve diferença significativa quanto aos teores de prunasina nos porta-enxertos das combinações

avaliadas, tendo-se obtido teores de zero ou muito próximos de zero (Tabela 1). Segundo Gur et al. (1968), a ausência de prunasina em *P. communis*, associada às concentrações elevadas em marmeleiro, causa incompatibilidade. Portanto, pode-se sugerir que *P. calleryana* e *P. betulifolia* apresentarão problemas de afinidade se enxertados com genótipos de elevada concentração de prunasina.

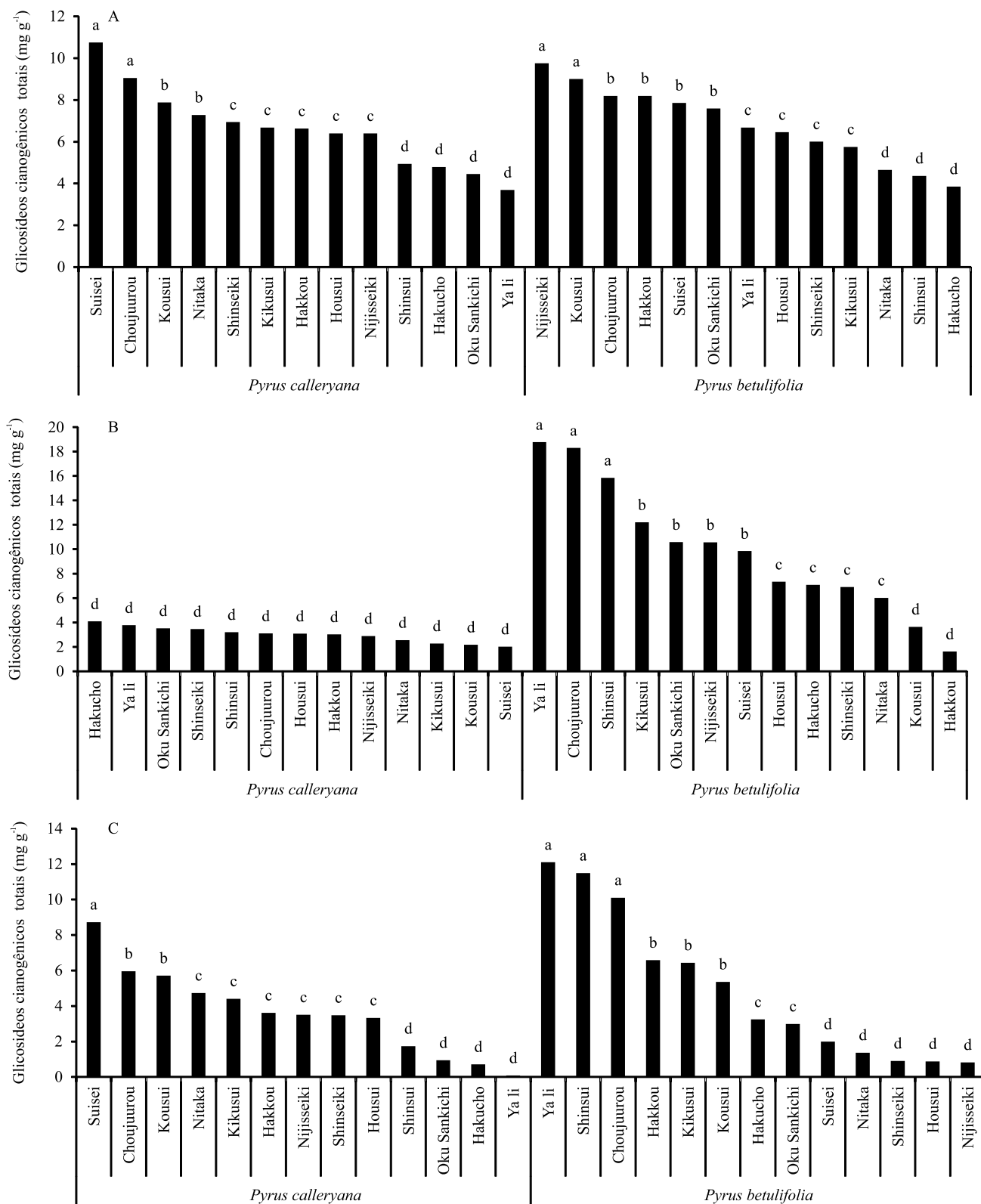
Ao se analisar o teor de GCs totais na cultivar, houve a formação de quatro grupos. O de maior potencial cianogênico foi formado por 'Suisei'/*P. calleryana*, 'Choujuurou'/*P. calleryana*, 'Nijisseiki'/*P. betulifolia* e 'Kousui'/*P. betulifolia* (Figura 1 A). Já as combinações 'Shinsui'/*P. calleryana*, 'Hakucho'/*P. calleryana*, 'Oku Sankichi'/*P. calleryana*, 'Ya li'/*P. calleryana*, 'Nitaka'/*P. betulifolia*, 'Shinsui'/*P. betulifolia* e 'Hakucho'/*P. betulifolia* apresentaram os menores

teores. Em relação aos níveis de GCs totais determinados nos porta-enxertos, foram compostos quatro grupos. O de maior concentração foi constituído pelas combinações 'Ya li'/*P. betulifolia*, 'Choujuurou'/*P. betulifolia* e 'Shinsui'/*P. betulifolia* (Figura 1 B). O grupo que apresentou os menores teores de GCs no porta-enxerto foi formado por todas as combinações com o porta-enxerto *P. calleryana*, além de 'Kousui'/*P. betulifolia* e 'Hakucho'/*P. betulifolia*. Na avaliação da diferença entre a concentração de GCs totais na cultivar e no porta-enxerto, foram compostos quatro grupos (Figura 1 C). No primeiro, em que foram identificadas as maiores diferenças, agruparam-se as combinações 'Suisei'/*P. calleryana*, 'Ya li'/*P. betulifolia*, 'Shinsui'/*P. betulifolia* e 'Choujuurou'/*P. betulifolia*. Esse resultado pode ser indicativo de maior tendência à incompatibilidade. As combinações

**Tabela 1.** Concentração de amigdalina e prunasina na cultivar de pereira asiática (*Pyrus pyrifolia*) e no porta-enxerto avaliados, índice de clorofila total e compatibilidade das combinações de enxertia de 13 cultivares de pereiras asiáticas enxertadas sobre os porta-enxertos *Pyrus calleryana* e *P. betulifolia*<sup>(1)</sup>.

Cultivar	Porta-enxerto	Amigdalina (mg g <sup>-1</sup> )		Prunasina (mg g <sup>-1</sup> )		Clorofila total	Compatibilidade
		Cultivar	Porta-enxerto	Cultivar	Porta-enxerto		
Ya li	<i>Pyrus calleryana</i>	3,02e	3,77d	0,67d	0,00a	50,45c	Compatível
	<i>Pyrus betulifolia</i>	5,64c	18,78a	1,04c	0,00a	47,17c	Compatível
Shinsui	<i>Pyrus calleryana</i>	3,74e	3,20d	1,21b	0,00a	60,06b	Compatível
	<i>Pyrus betulifolia</i>	3,53e	15,86a	0,83c	0,00a	54,63b	Compatível
Oku Sankichi	<i>Pyrus calleryana</i>	3,64e	3,52d	0,81c	0,00a	64,36a	Compatível
	<i>Pyrus betulifolia</i>	4,90d	10,58b	2,69a	0,00a	51,56c	Compatível
Hakucho	<i>Pyrus calleryana</i>	4,16e	4,09d	0,64d	0,00a	47,90c	Compatível
	<i>Pyrus betulifolia</i>	3,43e	7,09c	0,43d	0,00a	41,27d	Compatível
Nitaka	<i>Pyrus calleryana</i>	7,22c	2,30d	0,07e	0,25a	49,58c	Compatível
	<i>Pyrus betulifolia</i>	4,65d	6,02c	0,00e	0,00a	47,76c	Compatível
Shinseiki	<i>Pyrus calleryana</i>	6,28c	3,46d	0,67d	0,00a	63,42a	Compatível
	<i>Pyrus betulifolia</i>	5,42d	6,68c	0,59d	0,23a	58,33b	Compatível
Suisei	<i>Pyrus calleryana</i>	10,00a	2,02d	0,76d	0,00a	56,84b	Compatível
	<i>Pyrus betulifolia</i>	6,92c	9,85b	0,93c	0,00a	56,71b	Compatível
Choujuurou	<i>Pyrus calleryana</i>	7,68b	3,09d	1,38b	0,00a	55,79b	Compatível
	<i>Pyrus betulifolia</i>	7,34c	18,30a	0,86c	0,00a	49,26c	Compatível
Nijisseiki	<i>Pyrus calleryana</i>	6,00c	2,88d	0,40d	0,00a	60,03b	Incompatível
	<i>Pyrus betulifolia</i>	8,61b	10,57b	1,15b	0,00a	56,13b	Incompatível
Kousui	<i>Pyrus calleryana</i>	6,51c	2,18d	1,38b	0,00a	54,67b	Incompatível
	<i>Pyrus betulifolia</i>	8,31b	3,64d	0,70d	0,00a	58,72b	Compatível
Housui	<i>Pyrus calleryana</i>	5,82c	3,08d	0,59d	0,00a	54,09b	Compatível
	<i>Pyrus betulifolia</i>	5,85c	7,33c	0,60d	0,00a	49,14c	Compatível
Kikusui	<i>Pyrus calleryana</i>	6,22c	2,07d	0,47d	0,00a	67,32a	Compatível
	<i>Pyrus betulifolia</i>	5,19d	12,20b	0,56d	0,00a	57,78b	Compatível
Hakkou	<i>Pyrus calleryana</i>	6,00c	3,02d	0,63d	0,00a	55,26b	Compatível
	<i>Pyrus betulifolia</i>	7,37c	1,61d	0,83c	0,00a	49,65c	Compatível
CV (%)		14,51	27,52	24,78	51,21	5,45	-

<sup>(1)</sup>Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.



**Figura 1.** Concentração de glicosídeos cianogênicos totais na cultivar de pereira asiática (*Pyrus pyrifolia*, A) e no porta-enxerto (B), e diferença entre a concentração de glicosídeos cianogênicos totais na cultivar e no porta-enxerto (C), nas 26 combinações avaliadas. Médias seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

'Shinsui'/*P. calleryana*, 'Oku Sankichi'/*P. calleryana*, 'Hakucho'/*P. calleryana*, 'Ya li'/*P. calleryana*, 'Suisei'/*P. betulifolia*, 'Nitaka'/*P. betulifolia*, 'Shinseiki'/*P. betulifolia*, 'Housui'/*P. betulifolia* e 'Nijisseiki'/*P. betulifolia* formaram o grupo de menor diferença.

A diferença na concentração de GCs entre o porta-enxerto e a cultivar-copa tem sido relacionada ao fenômeno de incompatibilidade de enxertia entre diferentes espécies de plantas, como pereira e marmeleiro, e pessegueiro [*Prunus persica* (L.) Batsch] e ameixeira (*Prunus salicina* Lindl.) (Nocito et al., 2010; Pereira et al., 2014). Além disso, o processo de incompatibilidade é desencadeado pela enxertia entre um genótipo cianogênico e outro não cianogênico (Gur et al., 1968; Moore, 1986), ou entre genótipos com potenciais cianogênicos bastante distintos (Gur & Blum, 1973; Pereira et al., 2014). Porém, de acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, não houve relação entre os teores de GCs e os sintomas de incompatibilidade de enxertia observados nas combinações 'Nijisseiki'/*P. calleryana*, 'Nijisseiki'/*P. betulifolia* e 'Kousui'/*P. calleryana* (Tabela 1). Isso provavelmente pode ser atribuído às diferenças entre os teores de GCs totais no porta-enxerto e na cultivar-copa, que foram relativamente baixas entre as combinações estudadas, tendo apresentado valor de 12,1 mg g<sup>-1</sup>. Dessa forma, é possível que o mecanismo de incompatibilidade atuante nessas três combinações seja outro. Outros mecanismos estudados atualmente incluem: diferenças entre compostos fenólicos do porta-enxerto e da cultivar-copa, distúrbios hormonais e problemas na comunicação celular (plasmodesmas) do porta-enxerto e da cultivar-copa (Pina et al., 2012; Hudina et al., 2014; Pereira et al., 2014).

Quanto ao teor de clorofila, obteve-se a formação de quatro grupos. As combinações com maior teor foram 'Kikusui'/*P. calleryana*, 'Shinseiki'/*P. calleryana* e 'Oku Sankishi'/*P. calleryana*, enquanto a com menor teor foi 'Hakucho'/*P. betulifolia* (Tabela 1). O porta-enxerto *P. calleryana* induziu maior concentração de clorofila nas folhas de pereiras asiáticas que *P. betulifolia*. Entretanto, ao contrário do verificado por Ciobotari et al. (2010), não foi constatada relação entre o teor de clorofila nas folhas e a incompatibilidade de enxertia, pois os enxertos com problemas de incompatibilidade ('Nijisseiki'/*P. calleryana*, 'Nijisseiki'/*P. betulifolia* e 'Kousui'/*P. calleryana*) apresentaram teor de clorofila

intermediário, e não houve incompatibilidade na combinação com o menor teor ('Hakucho'/*P. betulifolia*).

As diferenças observadas entre a concentração de glicosídeos cianogênicos totais na cultivar e no porta-enxerto não provocam incompatibilidade de enxertia nas combinações estudadas. A concentração de glicosídeos cianogênicos não se mostrou um marcador bioquímico eficiente para identificar incompatibilidade de enxertia nas combinações entre pereiras asiáticas e os porta-enxertos *Pyrus calleryana* e *P. betulifolia*.

## Referências

- BETTIOL NETO, J.E.; CHAGAS, E.A.; SANCHES, J.; PIO, R.; ANTONIALI, S.; CIA, P. Produção e qualidade pós-colheita de cultivares de pereira nas condições subtropicais da região leste paulista. **Ciência Rural**, v.44, p.1740-1746, 2014. DOI: 10.1590/0103-8478cr20131574.
- BOTELHO, R.V.; MÜLLER, M.M.L.; BASSO, C.; SUZUKI, A. Estado nutricional de diferentes cultivares de pereira nas condições edafoclimáticas de Guarapuava-PR. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, p.884-891, 2010. DOI: 10.1590/S0100-29452010005000087.
- CIOBOTARI, G.; BRINZA, M.; MORARIU, A.; GRADINARIU G. Graft incompatibility influence on assimilating pigments and soluble sugars amount of some pear (*Pyrus sativa*) cultivars. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v.38, p.187-192, 2010.
- FAORO, I.D.; ORTH, A.I. A cultura da pereira no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, 2010. DOI: 10.1590/S0100-29452010000100001.
- GUR, A.; BLUM, A. The role of cyanogenic glycoside in incompatibility between peach scions and almond rootstocks. **Horticultural Research**, v.13, p.1-10, 1973.
- GUR, A.; SAMISH, R.M.; LIFSHITZ, E. The role of the cyanogenic glycoside of the quince in the incompatibility between pear cultivars and quince rootstocks. **Horticultural Research**, v.8, p.113-134, 1968.
- HUDINA, M.; ORAZEM, P.; JAKOPIC, J.; STAMPAR, F. The phenolic content and its involvement in the graft incompatibility process of various pear rootstocks (*Pyrus communis* L.). **Journal of Plant Physiology**, v.171, p.76-84, 2014. DOI: 10.1016/j.jplph.2013.10.022.
- MOORE, R. Graft incompatibility between pear and quince: the influence of metabolites of *Cydonia oblonga* on suspension cultures of *Pyrus communis*. **American Journal of Botany**, v.73, p.1-4, 1986. DOI: 10.2307/2444270.
- NOCITO, F.F.; ESPEN, L.; FEDELI, C.; LANCILLI, C.; MUSACCHI, S.; SERRA, S.; SANSAVINI, S.; COCUCCHI, M.; SACCHI, G.A. Oxidative stress and senescence-like status of pear calli co-cultured on suspensions of incompatible quince microcalli. **Tree Physiology**, v.30, p.450-458, 2010. DOI: 10.1093/treephys/tpq006.

PASA, M. da S.; FACHINELLO, J.C.; SCHMITZ, J.D.; SOUZA, A.L.K. de; HERTER, F.G. Hábito de frutificação e produção de pereiras sobre diferentes porta-enxertos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, p.998-1005, 2011. DOI: 10.1590/S0100-204X2011000900005.

PEREIRA, I. dos S.; FACHINELLO, J.C.; ANTUNES, L.E.C.; CAMPOS, Â.D.; PINA, A. Incompatibilidade de enxertia em *Prunus*. **Ciência Rural**, v.44, p.1519-1526, 2014. DOI: 10.1590/0103-8478cr20131074.

PINA, A.; ERREA, P.; MARTENS, H.J. Graft union formation and cell-to-cell communication via plasmodesmata in compatible and incompatible stem unions of *Prunus* spp. **Scientia Horticulturae**, v.143, p.144-150, 2012. DOI: 10.1016/j.scienta.2012.06.017.

SANTOS, H.G. dos; JACOMINE, P.K.T.; ANJOS, L.H.C. dos; OLIVEIRA, V.A. de; OLIVEIRA, J.B. de; COELHO, M.R.; LUMBRERAS, J.F.; CUNHA, T.J.F. (Ed.). **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306p.

---

Recebido em 10 de fevereiro de 2014 e aprovado em 14 de julho de 2015