

## **PRODUÇÃO DE LINHAGENS CLONais IN VITRO DE NOVAS SELEÇÕES DE PORTA-ENXERTOS DE *Prunus persica***

VALMOR JOÃO BIANCHI<sup>1</sup>; JULIA CAROLINA CARDozo CORRÊA<sup>2</sup>; ISABELA LAYDNER SOARES<sup>3</sup>; MARIANA POLL MORAES<sup>4</sup>; JOÃO ANTÔNIO PARAGINSKI<sup>5</sup>; MEMOONA BIBI<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Professor Titular – Departamento de Botânica – Universidade Federal de Pelotas – [valmorjb@yahoo.com](mailto:valmorjb@yahoo.com)

<sup>2</sup>Estudante de Biotecnologia, Bolsista de Iniciação Científica - CNPq - Universidade Federal de Pelotas – [juliacarolinacorrea@gmail.com](mailto:juliacarolinacorrea@gmail.com)

<sup>3</sup>Estudante de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas – [lhaydnsoares@gmail.com](mailto:lhaydnsoares@gmail.com)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – Campus Capão do Leão – [maripollmoraes@gmail.com](mailto:maripollmoraes@gmail.com)

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão – [joaoantonioparaginski@gmail.com](mailto:joaoantonioparaginski@gmail.com)

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão – [memoonafaiz5@gmail.com](mailto:memoonafaiz5@gmail.com)

### **1. INTRODUÇÃO**

Em 2022, o Brasil ocupou o 15º lugar no ranking mundial de produção de pêssegos, sendo o estado do Rio Grande do Sul o maior produtor nacional, com 62% da produção (JORNAL DA FRUTA, 2024). A manutenção da produção de pêssegos depende da renovação das áreas de cultivo, necessitando da produção constante de mudas. No Brasil, na sua grande maioria, as mudas são enxertadas sobre porta-enxerto franco, cujas sementes são oriundas da indústria de conservas, portanto sem identidade genética conhecida.

O uso de porta-enxertos na cultura do pessegueiro, e outras frutas de caroço, oferece vários benefícios, como a melhor adaptação a condições de estresse biótico (pragas e doenças) e abiótico (solo e clima), que limitam a produção, bem como podem modificar o vigor da planta, a arquitetura, a longevidade do pomar, a qualidade e precocidade da produção (LANG, 2024). No Brasil, apenas quatro porta-enxertos de pessegueiro estão registrados para a cultura no MAPA (Ministério de Agricultura e Pecuária), havendo grande carência de novos porta-enxertos com características genéticas melhoradas para a cultura.

A produção de porta-enxertos de pessegueiro pode ser feita a partir de sementes obtidas de plantas matrizes selecionadas ou de forma vegetativa, pelo método de estaquia e por cultivo in vitro ou micropropagação. A estaquia aumenta as chances de disseminação de doenças bacterianas e virais. Em contraponto, a micropropagação pode ser usada não só para a produção em larga escala, mas também como ferramenta para auxiliar no melhoramento genético de espécies perenes, como o pessegueiro (DIAS et al., 2012; FELEK et al., 2017).

A micropropagação utiliza meios de cultivo ricos em nutrientes e condições ambientais específicas e assépticas, gerando um elevado número de plantas, em reduzido espaço físico e de tempo (BONGA & Von ADERKAS, 1992), em relação a outros métodos de propagação. Nesse contexto, a germinação in vitro de sementes de novas seleções de porta-enxertos de pessegueiro, tem grande aplicabilidade para auxiliar no melhoramento genético. A partir de cada semente é possível obter linhagens clonais em condições de alta sanidade em curto espaço de tempo, visando a obtenção de plantas para serem testadas e selecionadas a campo. Baseado nisso, o objetivo deste estudo é de testar o potencial germinativo in vitro de seleções de porta-enxertos de pessegueiro, obter linhagens clonais de cada seedlings e identificar quais seleções ou linhagens possuem maior potencial de propagação in vitro.

## 2. METODOLOGIA

O estudo está sendo desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pelotas, e faz parte do trabalho de melhoramento genético de porta-enxertos para *Prunus*, iniciado em 2003, com o Projeto - COCEPE N° 50103246 (BIANCHI et al., 2003), e que atualmente segue ativo com o Projeto Unificado - COCEPE N° 8163.

Como material vegetal utilizou-se, conforme a disponibilidade, um número variável de sementes de 11 seleções de porta-enxerto de pessegueiro, obtidos por cruzamento controlado na UFPel, cujos frutos foram colhidos em plantas matrizas mantidas na Coleção de Germoplasma de Porta-enxerto de *Prunus* spp. no Centro Agropecuário da Palma-UFPel.

Após a colheita, os caroços foram despolpados, secos à sombra e mantidos em geladeira a 4°C por aproximadamente 4 meses. Em junho de 2024 os caroços foram quebrados e as sementes foram desinfestadas em álcool 70%, por 10 segundos; enxágue duplo com água destilada autoclavada; 20 minutos em solução de hipoclorito de sódio (2% p.a.), seguido de enxágue triplo em água destilada autoclavada. Após a desinfestação, realizada em câmara de fluxo laminar, cada semente foi inoculada individualmente em tubo de ensaio contendo o meio de cultura DKW (DRIVER E KUNIYUKI, 1984), suplementado com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, pH 5,8, sem adição de reguladores de crescimento. As sementes permaneceram no meio de cultivo durante dois meses, momento em que foi realizada a primeira avaliação da porcentagem de germinação, porcentagem de sementes contaminadas e porcentagem de brotações clonais resgatadas de cada genótipo.

No mês de Setembro foi realizado o primeiro resgate de brotações, as quais foram transferidas, individualmente, para tubos de ensaios contendo o meio de cultura DKW, suplementado com BAP (1,5 mg L<sup>-1</sup>), sacarose 30 g L<sup>-1</sup>, pH 6,0. As sementes permanecem no meio de cultivo até o presente momento.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Proporcionalmente ao número de sementes inoculadas in vitro, as maiores porcentagens de germinação foram obtidas nas Seleções NR0400414, NR0170302, NR0130402, NR0080308 e NR0380301, com valores variando de 81,2% a 100% (Tabela 1). A seleção NR0040412 teve três sementes inoculadas in vitro, sendo o único genótipo que não teve sementes germinadas.

Na obtenção das diferentes seleções, buscou-se gerar materiais com duas características principais: resistência aos nematóides causadores de galhas (*Meloidogyne* spp.) e boa adaptação às condições climáticas do RS. As cultivares portadoras de genes de resistência a *Meloidogyne* utilizadas nos cruzamentos foram ‘Nemaguard’, ‘Flordaguard’, ‘Tsukuba’ e ‘Okinawa’. De outra parte foram utilizadas ‘Aldrichi’ e ‘Capdeboscq’, que são duas cultivares copa locais, muito utilizadas no passado na produção de porta-enxerto, por serem bem adaptadas às condições climáticas do RS, porém suscetíveis a nematóides das galhas (BIANCHI et al.; 2003; PAULA et al., 2011).

Dentre os cruzamentos realizados, a cultivar Aldrichi somente fez parte do cruzamento que gerou a seleção NR0040412 (‘Aldrichi’ × ‘Flordaguard’), o único genótipo no qual não se obteve sementes germinadas. Baixa porcentagem de germinação de sementes de ‘Aldrichi’ já haviam sido relatadas, cujos percentuais não eram superiores a 35,5% (SOUZA et al., 2017). Essa característica tem sido

observada também em outros ensaios de germinação, cujas sementes possuem como parental a cv. 'Aldrichi' (dados não divulgados).

**Tabela 1:** Análise descritiva para o número de sementes inoculadas in vitro, porcentagem de sementes germinadas, contaminadas e porcentagem de linhagens clonais resgatadas de cada seleção de porta-enxerto de pessegueiro (*Prunus persica* L. Batsch)

Seleção do porta-enxerto de pessegueiro	Número de sementes inoculadas in vitro	Porcentagem de sementes germinadas por seleção	Porcentagem de sementes contaminadas	Porcentagem de linhagens clonais resgatas de cada seleção
	26/06/2024	27/08/2024	27/08/2024	19/09/2024
NR0400414	16	13 (81,2%)	1 (6,2%)	12 (75,0%)
NR0170302	13	11 (84,6%)	0 (0,0%)	11 (84,6%)
NR0160305	4	1 (25,0%)	0 (0,0%)	1 (25,0%)
NR0130402	11	9 (81,8%)	0 (0,0%)	9 (81,8%)
NR0080308	6	5 (83,3%)	1 (16,6%)	5 (83,3%)
NR0060401	2	1 (50,0%)	0 (0,0%)	1 (50,0%)
NR0110401	12	8 (66,6%)	0 (0,0%)	8 (66,6%)
NR0300402	12	2 (16,6%)	2 (16,6%)	2 (16,6%)
NR0050202	11	6 (54,5%)	0 (0,0%)	6 (54,5%)
NR0380301	2	2 (100,0%)	1 (50,0%)	1 (50,0%)
NR0040412	3	0 (00,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)

Com relação a contaminação, apenas quatro Seleções apresentaram uma ou duas sementes contaminadas, com percentuais variando de 6,2% a 50%, proporcionais ao número de sementes inoculadas (Tabela 1). Tal resultado indica que o protocolo utilizado na desinfestação foi adequado e eficiente.

Ao avaliar a porcentagem de seleções em que foi possível resgatar brotações, com exceção de NR0040412, em todas as demais Seleções foi possível resgatar uma ou mais brotações por semente, as quais deram origem a linhagens clonais. As maiores porcentagens de linhagens clonais foram obtidas a partir das Seleções NR0170302, NR0080308 e NR0130402, com valores variando de 81,8% a 84,6% (Tabela 1).

Dentre as Seleções em que se obteve mais de um explante por linhagem clonal, destacam-se as Seleção NR0400414, que a partir de duas das sementes de N° 1 e 13, foi possível obter duas brotações de cada semente. Na Seleção NR0170302, a semente de N° 2 produziu duas brotações. Na Seleção NR0130402, as sementes de N° 1, 7, 9 e 11, produziram duas brotações cada. Para a Seleção NR0080308, nas sementes de N° 1 e 2, resgatou-se três e duas brotações, respectivamente. Por fim, na Seleção NR0050202, a semente de N° 1 produziu duas brotações.

Diante da importância socioeconômica do cultivo de frutíferas de caroço no Rio Grande do Sul e no Brasil, a seleção de novos porta-enxertos para pessegueiro é fundamental para enfrentar fatores limitantes da produção, por meio do desenvolvimento de genótipos com melhor adaptação climática (tolerância a estresse hídrico – seca e alagamento) e resistência a estresse de origem biótica.

Para atingir tais objetivos, o cultivo in vitro poderá proporcionar maior celeridade e qualidade no processo de obtenção de novas linhagens de porta-enxertos para pessegueiro para serem testadas a campo. Entretanto, o desafio

futuro do projeto será otimizar os protocolos de multiplicação e enraizamento in vitro das linhagens clonais, uma vez que o pessegueiro é uma espécie com grande recalcitrância ao cultivo in vitro.

#### 4. CONCLUSÕES

O método empregado na desinfestação é eficiente e não compromete a qualidade fisiológica das sementes. As seleções NR0400414, NR0170302, NR0130402, NR0080308 e NR0380301 apresentam grande responsividade às condições de germinação in vitro utilizadas. Bem como, é possível obter linhagens clonais de porta-enxertos de pessegueiro, de forma rápida, e com alta qualidade sanitária, pelo método de germinação das sementes in vitro.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIANCHI, V.J.; MENEZES, G.G.; FACHINELLO, J.C. Obtenção de novos porta-enxertos para pessegueiro resistentes a nematoides: fase de implementação do projeto. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 12., ENCONTRO DA PÓS-GRADUAÇÃO, 5., 2003, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Editora Universitária, 2003, p.313.

DRIVER, J.A.; KUNIYUKI, A.H. *In vitro propagation of Paradox walnut rootstock*. **HortScience**, v. 19, p. 507–509, 1984.

FELEK, W.; MEKIBIB, F.; ADMASSU, B. Micropropagation of peach, *Prunus persica* (L.) Batsch cv. Garnet. **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 10, p. 490-498, 2017.

LANG, G.A. Guidelines for the choice of stone fruit rootstocks. **Italus Hortus**, v. 31, p. 18-26, 2024.

PAULA, L.A.; BIANCHI, V.J.; GOMES, C.B.; FACHINELLO, J.C. Reação de porta-enxertos de pessegueiro à *Meloidogyne incognita*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 680-684, 2011.

Projeto mapeia produção de pêssegos no Brasil e dá dicas de como produzir e conduzir o plantio do fruto. **Jornal da Fruta**. Acessado em 30 de ago. 2024. Disponível em: <https://revistadafruta.com.br/noticias-do-pomar/projeto-mapeia-producao-de-pessegos-no-brasil-e-da-dicas-de-como-produzir-e-conduzir-o-plantio-do-fruto>.

BONGA, J. M., VON ADERKAS, P. **In vitro culture of trees**. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1992. 236 p

DIAS, P. C., OLIVEIRA L. S., XAVIER A., WENDLING I., Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**: v. 32 n. 72, 2012.

SOUZA, A.G.; SPINELLI, V.M.; SOUZA, R.O.; SMIDERLE, O.J.; BIANCHI, V.J. Optimization of germination and initial quality of seedlings of *Prunus persica* tree rootstocks. **Journal of Seed Science**, v. 39, n. 2, p.166-173, 2017.