

## AVANÇOS NO CULTIVO IN VITRO DE LINHAGENS CLONAIS DE NOVAS SELEÇÕES DE PORTA-ENXERTOS DE PESSEGUEIRO

VALMOR JOÃO BIANCHI<sup>1</sup>; JULIA CAROLINA CARDOZO CORRÊA<sup>2</sup>; JONATAN EGEWARTH<sup>3</sup>; MEMOONA BIBI<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Professor Titular – Departamento de Botânica – Universidade Federal de Pelotas – valmorjb@yahoo.com

<sup>2</sup>Estudante de Biotecnologia, Bolsista de Iniciação Científica - CNPq - Universidade Federal de Pelotas – juliacarolinacorrea@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão – egewarthjonatan@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão – memoonafaiz5@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

Em 2023, o Brasil produziu 200.700 ton. de pêssegos, sendo o estado do Rio Grande do Sul o maior produtor nacional, com aproximadamente 130.823 ton. (IBGE, 2024). A manutenção da produção de pêssegos é dependente da renovação das áreas de cultivo, demandando a constante produção de mudas. No Brasil, mudas de frutíferas de caroço (pessegueiro, nectarineira e ameixeira) são tradicionalmente produzidas por enxertia da cultivar copa desejada sobre um porta-enxerto de pessegueiro, na sua grande maioria obtido por sementes sem identidade genética, obtidas nas indústrias de conservas.

Existem apenas quatro porta-enxertos de *Prunus* spp. registrados no MAPA (Ministério de Agricultura e Pecuária), portanto há grande carência de novos porta-enxertos com características genéticas melhoradas para a cultura. O porta-enxerto influencia o crescimento, a produtividade e a longevidade dos pomares (FELEK et al., 2017), sendo que a sua produção pode ser feita a partir de sementes de plantas matrizes selecionadas ou de forma vegetativa, por estaquia e cultivo in vitro.

O cultivo in vitro ou micropropagação pode ser usada na produção de plantas em larga escala, como ferramenta de auxílio no melhoramento genético, no resgate de embriões imaturos, e na produção de plantas com alta qualidade genética e sanitária. Essa é uma biotecnologia cada vez mais usada na propagação de grande número de espécies de plantas, sendo capaz de gerar um elevado número de plantas, em reduzido espaço físico e de tempo (BONGA & VON ADERKAS, 1992), entretanto, o pessegueiro é bastante recalcitrante ao cultivo in vitro, apresentando um grande desafio no seu cultivo, devido à baixa taxa de multiplicação, e a problemas de vitrificação e degenerescência após diversos subcultivos.

Em 2024, iniciou-se um estudo para avaliar o potencial de adaptação ao cultivo in vitro de diferentes seleções de porta-enxertos de pessegueiro, a partir do uso de sementes (BIANCHI et al., 2024). Nesse estudo, 92 sementes provenientes de Seleções de porta-enxertos desenvolvidas no UFPEl (BIANCHI et al., 2003) foram estabelecidas in vitro para a obtenção de linhagens clonais. Considerando que o cultivo in vitro possibilita obter e manter o material vegetal com alta qualidade genética e sanitária, neste estudo buscou-se descrever os resultados do processo de cultivo in vitro de novas seleções clonais de porta-enxertos de pessegueiro, após o período de um ano do estabelecimento in vitro a partir de sementes.

### 2. METODOLOGIA

O estudo está sendo desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, Departamento de Botânica da UFPEl, o qual faz parte das atividades de um projeto em 2003, registrado no COCEPE N° 50103246 (BIANCHI et al., 2003), tendo continuidade com Projeto Unificado - COCEPE N° 8163.

O cultivo in vitro teve início em 26/06/2024, a partir de sementes viáveis de 11 seleções de porta-enxerto de pessegueiro (totalizando 92 sementes), derivadas de frutos colhidos em plantas matrizes, obtidas por cruzamento controlado na UFPEL, e mantidas na Coleção de Germoplasma de Porta-enxerto de *Prunus* spp., no Centro Agropecuário da Palma-UFPEL.

A obtenção e desinfestação das sementes para o estabelecimento está descrito em BIANCHI et al., (2024). Cada semente foi inoculada individualmente em tubo de ensaio contendo o meio de cultura DKW (DRIVER & 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, contaminação e de brotações clonais resgatadas de cada genótipo.

No mês de setembro de 2024 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 brotações resgatadas a partir das sementes germinadas foram sendo subcultivadas a cada 30 dias, em meio DKW, suplementado com BAP (0,6 mg L<sup>-1</sup>), sacarose 30 g L<sup>-1</sup>, pH 5,8.

Buscou-se avaliar descritivamente o número de brotações obtidas ao longo dos subcultivos e o número de seleções clonais que mais responderam as condições de cultivo impostas entre o estabelecimento e o 11º subcultivo (no dia 19/05/2025).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao longo da multiplicação das brotações in vitro foi possível manter apenas seleções clonais de 07 (sete) genótipos por 11 ciclos de subcultivo (Tabela 1).

As sementes da seleção NR 0040412 não geraram brotações para novos cultivos. Para as seleções NR 0060401, NR 0160305 e NR 0300402, foi possível obter brotações que foram cultivadas entre o 2º e 5º subcultivos, havendo perda completa desses genótipos por degenerescência ou por contaminação.

As seleções que mais se destacaram foram NR 0380301, NR 0080308, NR 0130402, NR 0050202 e NR 0400414, com 100%, 66,66%, 54,54%, 54,54% e 50% de resgate de brotações a partir das sementes, respectivamente (Tabela 1).

Dentre as seleções clonais de NR 0050202, o maior número de brotações foi obtido com os clones CL 02 e CL 01. Na seleção NR 0080308, as clones CL 02 e CL 03, se destacaram, sendo que o CL3 se mostrou bastante responsivo as condições de cultivo in vitro utilizadas, produzindo um total de 84 brotações. Por sua vez, para a seleção NR 0130402 o CL 09 produziu o maior número de brotações (29) seguido do CL11 (10 brotações).

A seleção NR 0110401 e NR 0170302 apresentaram a menor percentual de recuperação de brotações demonstrando grande reaclitrância ao cultivo in vitro. Resultado similar foi obtido para a seleção NR 0380301, cujos clones geraram baixo número de brotações ao longo dos subcultivos.

Para a seleção NR 04004214, embora apenas 50% das sementes inicialmente utilizadas geraram brotações, os oito clones remanescentes apresentam responsividade média/alta para a formação de brotações, com destaque para CL 05 e CL 09, que após 11 subcultivos apresentaram respectivamente 91 e 64 explantes a partir de uma única brotação inicial.

**Tabela 1:** Número de seleções clonais de porta-enxertos de pessegueiro mantidas em cultivo in vitro e número de brotações obtidas após 11 subcultivos

| Genótipo   | Seleções clonais em multiplicação / número inicial | Seleção clonal | Número de brotações após o 11º subcultivo |
|------------|--|----------------|---|
| NR 0050202 | 6 / 11 (54,54%)                                    | CL 01          | 12  |
|            |  | CL 02          | 16  |
|            |  | CL 03          | 6   |
|            |  | CL 04          | 7   |
|            |  | CL 05          | 8   |
|            |  | CL 11          | 6   |
| NR 0080308 | 4 / 6 (66,66%)                                     | CL 01          | 11  |
|            |  | CL 02          | 37  |
|            |  | CL 03          | 84  |
|            |  | CL 04          | 4   |
| NR 0110401 | 1 / 11 (9,09%)                                     | CL 01          | 1   |
| NR 0130402 | 6 / 11 (54,54%)                                    | CL 02          | 3   |
|            |  | CL 05          | 8   |
|            |  | CL 06          | 7   |
|            |  | CL 08          | 2   |
|            |  | CL 09          | 29  |
|            |  | CL 11          | 10  |
| NR 0170302 | 2 / 13 (15,38%)                                    | CL 01          | 5   |
|            |  | CL 02          | 9   |
| NR 0380301 | 2 / 2 (100%)                                       | CL 01          | 08  |
|            |  | CL 02          | 02  |
| NR 0400414 | 8 / 16 (50%)                                       | CL 01          | 55  |
|            |  | CL 03          | 16  |
|            |  | CL 05          | 91  |
|            |  | CL 08          | 26  |
|            |  | CL 09          | 64  |
|            |  | CL 11          | 27  |
|            |  | CL 12          | 23  |
|            |  | CL 13          | 44  |

O pessegueiro é uma espécie recalcitrante ao cultivo in vitro, o que implica em baixa resposta morfogênica e dificuldade na manutenção das culturas a longo prazo (RICCI et al., 2023). A recalcitrância do pessegueiro pode estar relacionada ao genótipo, à idade fisiológica dos explantes, meio de cultura e reguladores de crescimento vegetal (ELIWA et al., 2024). No presente estudo, as seleções NR 0040412, NR 0060401, NR 0160305; NR 0300402, NR 0110401, além de diversos clones de outras seleções, comprovaram a alta recalcitrância, o qual impediu a germinação in vitro e/ou limitou a produção de brotações ao longo do tempo.

A multiplicação in vitro de *Prunus persica* pode ser limitada por fatores como a vitrificação, necrose de tecidos e degenerescência de explantes após sucessivos

subcultivos (FELEK et al., 2017), portanto exige ajustes constantes no meio de cultura e na concentração de reguladores de crescimento. Somado a isso, o fator genético é muito importante, sendo que no presente estudo alguns clones das seleções NR 0080308 e NR 0400414 se mostraram bastante responsivos a multiplicação, gerando perspectivas promissoras no que tange o avanço de protocolos de propagação clonal desta espécie.

A germinação in vitro das sementes de porta-enxertos de pessegueiro e a manutenção das linhagens clonais ao longo dos 11 ciclos de subcultivo in vitro indica o grande potencial desta biotecnologia em programas de melhoramento genético e na produção comercial de porta-enxertos clonais com alta sanidade.

#### 4. CONCLUSÕES

Com base nos dados obtido nesse estudo, foi possível concluir que: a) existe grande variabilidade no potencial organogênico entre porta-enxertos e entre seleções clonais obtidas a partir da mesma planta matriz de pessegueiro; b) o método de cultivo in vitro a partir de sementes se mostrou promissor para a identificação de seleções de porta-enxertos de pessegueiro menos recalcitrantes ao cultivo in vitro; c) o cultivo in vitro se mostrou uma biotecnologia importante para acelerar o processo de seleção de novos porta-enxertos de pessegueiro, com alta qualidade genética e sanitária.

#### 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.
- BIANCHI, V.J.; CORRÊA, J.C.C.; SOARES, S.L.; MORAES, M.P.; PARAGINSKI, J.A.; BIBI, M. Produção de linhagens clonais in vitro de novas seleções de porta-enxertos de *Prunus persica*. In: 10ª Semana Integrada da UFPEL - SIIPE, 2024, Pelotas. Anais da **10ª SIIPE**. Pelotas: UFPEL, 2024. v. 1. p. 1-4.
- BONGA, J. M., VON ADERKAS, P. **In vitro culture of trees**. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1992. 236 p.
- DRIVER, J.A.; KUNIYUKI, A.H. *In vitro* propagation of Paradox walnut rootstock. **HortScience**, v. 19, p. 507–509, 1984.
- ELIWA, G.I.; EI-DENGAWY, EL-R.F.; GAWISH, M.S.; YAMANY, M.M. Comprehensive study on in vitro propagation of some imported peach rootstocks: In vitro explant surface sterilization and bud proliferation. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 5586, 2024.
- FELEK, Wegayehu; MEKIBIB, Firew; ADMASSU, Belayneh. Micropropagation of peach, *Prunus persica* (L.) Batsch. cv. Garnem. **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 10, p. 490-498, 2017.
- IBGE, Produção Agrícola Municipal 2023. Rio de Janeiro: **IBGE**, 2024.
- RICCI, A; MEZZETI, B.; NOVACCHI, O.; BURGOS, L.; SABBADINI, S. In vitro regeneration, via organogenesis, from leaves of the peach rootstock GF677 (*P. persica* × *P. amygdalus*). **Acta Horticultural**, v. 1359, p. 81-86, 2023.