

Indução de brotações e assepsia de explantes de mamoeiro cv. Tainung 01 visando à micropropagação

Francisco Ronaldo Vidal¹, Josefa Diva Nogueira Diniz² e Fanuel Pereira da Silva³

Resumo – A utilização de um método de propagação vegetativa de mamoeiro a partir de plantas identificadas facilitará a produção, haja vista a preferência por frutos de plantas hermafroditas. Dois experimentos foram conduzidos: (I) Objetivou-se a indução de brotações em condições de campo, com uso da poda em diferentes alturas (ápice, 20, 40 e 60cm do ápice). Constatou-se que a poda mais drástica aumentou o número de novas brotações emitidas. (II) As novas brotações obtidas após a poda foram desinfestadas usando os produtos Rifampicina, Agrimicina e Kasumin, adicionados ao meio de cultura e em imersão dos explantes sob agitação. Os melhores resultados foram observados quando os explantes foram mantidos em solução com desinfestantes por 24 horas, com Agrimicina e Rifampicina.

Termos para indexação: Multiplicação *in vitro*; Poda; *Carica papaya*.

Shoot induction and asepsis of explants from adults plants of papaya aiming micropropagation

Abstract: The utilization of an efficient method of vegetative propagation of papaya fruit from identified plants will facilitate the production, because the preference to big fruits originated from hermaphrodite plants. Two experiments were conducted: (I) Aimed at inducing shoot in plants under field condition though pruning the plants at different heights (top, 20, 40 and 60 cm from the top). The results showed that the most drastic pruning induced the plant to produce a greater number of new shoots. (II) The new obtained shoots were used in the asepsis experiments, which were disinfected by the use of the Rifampicina, Agrimicina and Kasumin, added to the medium culture or used by immersion in the explants that were shaken by 24 hours. The explants that were kept in solution with disinfectants for 24 hours showed better results, mainly with Agrimicina and Rifampicina.

Index terms: *in vitro* multiplication; pruning; *carica papaya*.

A propagação vegetativa ainda não é utilizada em escala comercial em mamoeiro (*Carica papaya* L.) devido à poucas brotações laterais emitidas no caule. Contudo, com o auxílio da poda apical é possível suprimir a produção de auxina, responsável pela dominância apical, e liberar gemas laterais da dormência (Barros et al., 2009). O sucesso da poda pode significar uma alternativa na micropropagação diante dos entraves apresentados com a propagação semínifera da espécie, como os gastos com sementes e o aumento de mão de obra e insumos ao plantar muitas mudas por cova para garantir as plantas hermafroditas.

Os trabalhos desenvolvidos com ma-

terial retirado de plantas de campo são escassos na micropropagação porque as plantas apresentam maior contaminação fúngica e bacteriana e presença de ácaros do que em explantes obtidos de plantas em condições controladas. Os antibióticos vêm sendo usados com frequência cada vez maior na cultura de tecidos, principalmente em plantas que apresentam dificuldade na fase de descontaminação, sendo tais substâncias incorporadas ao meio de cultura ou usadas diretamente sobre os explantes.

A Rifampicina, um antibiótico do grupo das rifamidas, indicada para controlar bactérias, tem mostrado elevado potencial no controle de infecções endógenas em várias espécies de plan-

tas (Pollock et al., 1983; Bobroff et al., 2009). A Agrimicina é um antibiotico em pó extremamente tóxico que possui como ingredientes ativos a oxitetraciclina e a estreptomina, enquanto o fungicida-bactericida Kasumin vem sendo testado, usualmente, na desinfestação de explantes.

Objetivou-se com esse trabalho desenvolver um protocolo de indução de brotações e de desinfestação de brotações de mamoeiro do grupo Formosa, *C. papaya* L. cv. Tainung 01, originadas de plantas no campo. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos, no telado e no campo experimental do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrá-►

Recebido em 6/5/2013. Aceito para publicação em 15/1/2014.

¹ Engenheiro-agrônomo, M.Sc., Universidade Federal do Ceará / Departamento de Fitotecnia, Campus do Pici, Blocos 805 e 806, Fortaleza, CE, fone: (85) 3366-9668, e-mail: vidal.b@bol.com.br.

² Engenheira-agrônoma, Dra., Universidade Federal do Ceará / Departamento de Fitotecnia, e-mail: dndiniz@ufc.com.

³ Engenheiro-agrônomo, Dr., Universidade Federal do Ceará / Departamento de Fitotecnia, e-mail: fanuel@ufc.com.

rias da Universidade Federal do Ceará de fevereiro a maio de 2009.

As mudas foram produzidas a partir de sementes germinadas em condições de telado, utilizando-se bandejas. Ao atingirem 10 a 15cm de tamanho, foram transferidas para sacolas de polietileno. Após 2 meses, foram transplantadas para o campo experimental, conduzidas sob irrigação por microaspersão.

Experimento 1: Indução de brotações em plantas adultas de mamoeiro cv. Tainung 01 por meio da poda em diferentes alturas.

Para a indução de brotações, foram realizadas podas em diferentes alturas após 150 dias do transplante das mudas para o campo. Os tratamentos se constituíram do corte do ápice (T1); corte a 20cm do ápice (T2); a 40cm do ápice (T3) e a 60cm do ápice (T4). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, quatro repetições e três plantas por repetição, totalizando 12 plantas por tratamento. Aos 30 dias após a poda foram avaliadas as seguintes características: a) número de brotações emitidas por planta; b) desenvolvimento do broto terminal e do broto maior, avaliados a partir de: i) altura – as brotações foram medidas da base ao ápice (cm); ii) diâmetro (mm); e iii) número de folhas.

Experimento 2: Desinfestação de explantes de mamoeiro provenientes de plantas cultivadas no campo.

As plantas foram pulverizadas com o bactericida Agrimicina 48 horas antes da coleta das brotações. A seguir veio a coleta dos ápices dos ramos, aos 30 dias após a poda, e transportados para o laboratório, onde foram retiradas as gemas apicais e laterais, seguindo-se da lavagem em água corrente e a divisão em dois grupos. No primeiro grupo, em câmara de fluxo laminar, os explantes foram desinfestados com hipoclorito de sódio comercial (NaOCl) a 2% por 10 minutos, em seguida lavados três vezes em água destilada, esterilizada e inoculados em meio de cultivo sem bactericida (testemunha) e em meio contendo os produtos usados na de-

sinfestação: Rifampicina, Agrimicina e Kasumin, nas concentrações de 300mg L⁻¹, 3g L⁻¹ e 1ml L⁻¹ respectivamente. A concentração do Kasumin foi usada conforme as recomendações do produto, e os demais produtos foram baseados em dados observados na literatura. No segundo grupo, os explantes foram imersos por 24 horas sob agitação em Agrimicina, Rifampicina e Kasumin nas mesmas concentrações anteriores por 24 horas, depois imersos em solução de NaOCl a 2% durante 10 minutos. Depois disso, foram lavados três vezes em água destilada e esterilizada e inoculados em tubos de ensaio com aproximadamente 10ml de meio de cultura, sendo 1 explante por tubo.

O modelo experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, para 8 tratamentos resultantes do esquema fatorial (4 x 2), com 50 explantes por tratamento (1 explante por tubo). Aos 33 dias após a inoculação, realizou-se a avaliação da porcentagem de explantes contaminados e de explantes vivos.

O meio de cultivo usado nos dois experimentos foi o MS (Murashige & Skoog, 1962), com 1mg L⁻¹ de 2iP, 1mg L⁻¹ de GA₃ e 0,1mg L⁻¹ de ANA, cujas concentrações dos reguladores foram utilizadas de acordo com resultados de experimentos preliminares. O pH do meio foi ajustado para 5,7 e autoclavado por

20 minutos a 121°C e 1 atm. Após a inoculação no meio de cultura, os explantes foram transferidos para a sala de crescimento com temperatura média de 26°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa em torno de 2.000 lux.

No experimento 1, verificou-se que quanto maior a poda (60cm), maior o número de brotações emitidas pelos mamoeiros (Figura 1), todavia não foi verificada diferença significativa entre as plantas podadas aos 20, 40 e 60cm do ápice. Resultados semelhantes foram encontrados por Barros et al. (2009) em mamoeiro cv. Golden, que constataram que o reduzido número de brotações com a poda alta (menos drástica) se deve à formação de grandes quantidades de brotações reprodutivas abaixo da região do ápice podado, no qual as gemas já estavam predeterminadas.

Observou-se que a altura média das brotações terminais foi maior nas plantas podadas entre 20 e 60cm (Tabela 1). Giampan et al. (2005) verificaram diferença significativa da poda realizada na altura média da planta 30 dias após a eliminação da gema apical em mamoeiro 'Sunrise Solo'. O número de folhas do broto terminal foi maior nas plantas podadas a 20, 40 e 60cm. Comportamento similar, tanto para diâmetro e altura como para número de folhas do broto terminal, foi encontrado por Lopes et

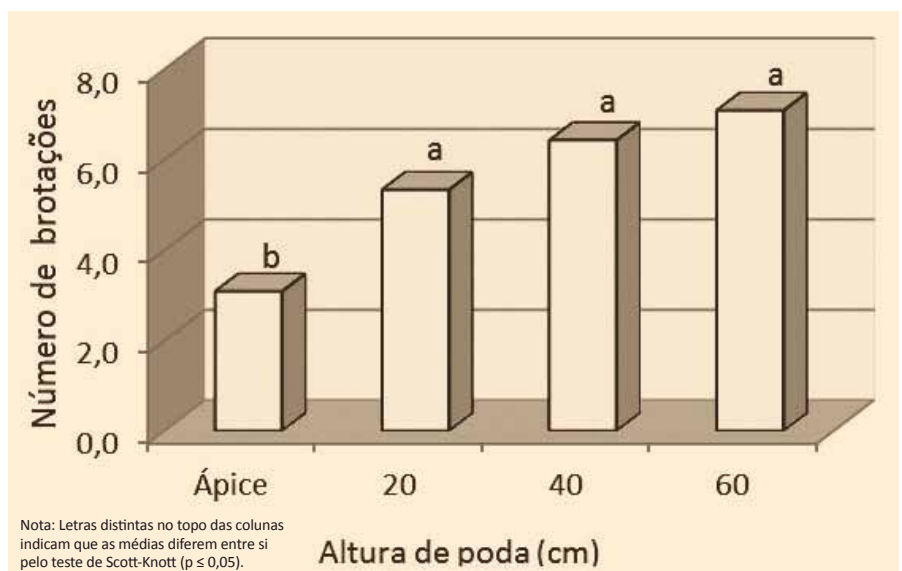


Figura 1. Número médio de brotações de mamoeiros cv. Tainung 01 aos 30 dias após a poda em diferentes alturas (ápice, 20, 40 e 60cm do ápice)

al. (2008) em mamoeiro cv. Tainung 01, submetido a diferentes alturas de corte do caule.

Em relação às brotações das plantas após a poda, pôde-se constatar que o diâmetro do broto maior se comportou de maneira igual ao broto terminal, e não foram verificadas diferenças entre as diferentes alturas de poda. A altura das brotações maiores retiradas das plantas podadas a 20, 40 e 60cm do ápice foi estatisticamente igual, diferindo apenas daquelas em que foi eliminado o ápice (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Carvalho et al. (2008) em ameixeiras, *Prunus* sp., 'Polirrosa' com plantas podadas a diferentes alturas. Quanto ao número de folhas, observou-se que quanto maior a altura do corte do caule, maior o número médio de folhas emitidas por brotação, com maior número de folhas no tratamento a 60cm do ápice.

No experimento 2, verificou-se que na desinfestação com os produtos incorporados ao meio de cultivo (Rifampicina e Agrimicina), os explantes apresentaram menores índices de contaminação – 24% e 28% respectivamente – em relação ao Kasumin (66%) e à testemunha

(82%) (Tabela 2). Tais resultados estão de acordo com os obtidos por Handa et al. (2005) em pau-rosa, *A. rosaeodora* Ducke, no qual a menor porcentagem de contaminação foi obtida mediante a imersão por 1 hora dos explantes em solução contendo Agrimicina a 300mg L⁻¹. Vianna et al. (1997), em mamoeiro cv. Formosa, verificaram a eficiência da Rifampicina, obtendo 70% de explantes de plantas de campo livres de contaminações. Embora a utilização dos produtos no meio de cultivo tenha apresentado bons resultados, seu uso faz com que o meio de cultura fique opaco, dificultando a visualização de eventuais contaminações.

Quando os explantes foram agitados por 24 horas na presença de antibióticos, a contaminação foi menor em relação a quando incorporados ao meio de cultivo. A Rifampicina e a Agrimicina apresentaram os melhores resultados para a descontaminação, com 6% e 4% respectivamente. Possivelmente, esse fato elevou de forma significativa o número de explantes viáveis. Para a cultura da bananeira 'IAC 2001', Bobroff et al. (2009), utilizando Agrimicina em diferentes concentrações, verificaram

melhores resultados com imersão dos explantes em 6g L⁻¹ por 20 minutos. Já Naue et al. (2007), testando a Agrimicina (320mg L⁻¹) em *Nicotiana tabacum* L., observaram melhor controle da contaminação bacteriana quando usada no meio em relação à imersão dos explantes.

A maior porcentagem de explantes vivos de mamoeiro foi observada quando os produtos usados na desinfestação foram adicionados ao meio de cultivo com 58%, 66% e 64% dos explantes vivos nos tratamentos com Rifampicina, Agrimicina e Kasumin respectivamente (Tabela 2). Verificou-se diferença significativa do tratamento testemunha, com porcentagem de sobrevivência de 36%.

A porcentagem média dos explantes vivos que foram submetidos por 24 horas sob agitação foi bem inferior à dos explantes inoculados imediatamente após sua coleta. Possivelmente, o tempo de imersão tenha sido muito longo, contribuindo para que os explantes perdessem parte da sua capacidade reativa, ficando mais frágeis e suscetíveis à toxidez pelo hipoclorito de sódio usado na desinfestação.

Tabela 1. Efeito da altura de poda sobre o diâmetro, altura e número de folhas do broto terminal em brotações de mamoeiro cv. Tainung 01, aos 30 dias em resposta a diferentes alturas de poda (ápice, 20, 40 e 60 cm do ápice)

Tratamento	Broto terminal			Broto maior		
	Diâmetro (cm)	Altura (cm)	Folhas (nº)	Diâmetro (cm)	Altura (cm)	Folhas (nº)
Ápice	2,07 a	4,29 b	7,09 b	2,62 a	4,37 b	7,33 c
20	2,31 a	7,99 a	9,50 a	2,87 a	8,29 a	9,41 b
40	1,87 a	6,03 a	8,83 a	2,52 a	7,11 a	9,33 b
60	1,98 a	8,26 a	9,67 a	2,67 a	9,58 a	10,67 a

Nota: Letras distintas nas colunas indicam que as médias diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Tabela 2. Porcentagem média dos explantes de plantas de mamoeiro cv. Tainung 01 contaminados e vivos aos 33 dias de cultivo *in vitro* em resposta aos bactericidas Rifampicina (300mg L⁻¹), Agrimicina (3g L⁻¹) e Kasumin (1ml L⁻¹), incorporados ao meio de cultivo ou por imersão por 24 horas sob agitação

Forma	Testemunha	Rifampicina	Agrimicina	Kasumin	Total
No meio	82Aa/36Ab	24Ab/58Ab	28Ab/66Aa	66Aa/64Aa	50,0A/56A
Agitação	70Aa/0Bb	6Bb/28Ba	4Bb/16Ba	62Aa/2Bb	35,5B/11,5B
Total	76a/18b	15c/43a	16c/41a	64b/33a	-

Nota: Letras maiúsculas iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade. Letras minúsculas iguais nas linhas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade.

Agradecimentos

Ao BNB, pelo apoio financeiro no desenvolvimento da pesquisa.

Contribuição dos autores no trabalho

Francisco Ronaldo Vidal: Edição e desenvolvimento do texto, estatística, testes laboratoriais. **Josefa Diva Nogueira Diniz:** Orientação técnica, testes laboratoriais. **Fanuel Pereira da Silva:** Conselho técnico.

Referências

BARROS, F.L.S.; SCHMILDT, E.R.; AMARAL, J.A.T. et al. Influência da poda em diferentes alturas no mamoeiro 'Golden'. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.40, n.4, p.596-601, 2009.

BOBROFF, R.L.; LENZA, J.B.; PEREIRA, G.A. Avaliação de diferentes concentrações de Agrimicina para micropropagação de bana-

neira IAC 2001. **Uniciências**, Anápolis, v.13, p.203-212, 2009.

CARVALHO, R.I.N.; TRATCH, R.; MIKRUT, T.A. Redução da copa de ameixeira pela poda de topo na entrada da Endodormência. CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 20., ANNUAL MEETING OF THE INTERAMERICAN SOCIETY FOR TROPICAL HORTICULTURE, 54., 2008, Vitória, ES. Disponível em: <http://200.137.78.15/cd_XXCBF/paginas/ManejoCultura/Fitotecnica/20080711_194345.pdf>. Acesso em: 4 jan. 2010.

GIAMPAN, J.S.; CERQUEIRA, T.S.; JACOMINO, A.P. et al. Indução de brotações laterais de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v.27, n.1, p.185-187, 2005.

HANDA, L.; SAMPAIO, P. de T.B.; QUISEN, R.C. Cultura *in vitro* de embriões e de gemas de mudas de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* ducke). **Acta Amazônica**, Manaus, v.35, p.29-33, 2005.

LOPES, J.C.; COELHO, R.I.; BREGONCI, I.S.

Brotação de mamoeiro Tainung 01 submetido a diferentes alturas de corte do caule. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.2, p.360-365, 2008.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.437-497, 1962.

NAUE, C.R.; BENITIZ, L.B.; MEDEIROS, C.V. Eliminação de contaminantes microbianos da cultura de tecidos de *Nicotiana tabacum* L. In: CONGRESSO INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 16., 2007, Pelotas, RS. **Resumos...** Pelotas: UFPel, 2007. p.1-5.

POLLOCK, K.; BARFIELD, D. G.; SHIELD, R. The toxicity of antibiotics to plant cell culture. **Plant Cell Reports**, New York, v.2, p.36-39, 1983.

VIANNA, G.R.; COUTO, F.A.A.; OLIVEIRA, A.B. A rifampicina na descontaminação bacteriana de explantes de mamoeiro provenientes do campo. **Bragantia**, Campinas, v.56, n.2, p.249-254, 1997.

VOCÊ SABIA

que a Epagri/GMC publicou até hoje mais de 6 mil documentos técnico-científicos e que 89,7% dessa produção permite acesso digital ao documento na íntegra?

