

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

**MICROPROPAGAÇÃO E ENRAIZAMENTO *EX VITRO*
DE MAMOEIRO “TAINUNG 01”**

MÁRCIO JOSÉ VIEIRA DE OLIVEIRA

**ALEGRE
ESPÍRITO SANTO – BRASIL
ABRIL – 2008**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

**MICROPROPAGAÇÃO E ENRAIZAMENTO *EX VITRO*
DE MAMOEIRO “TAINUNG 01”**

MÁRCIO JOSÉ VIEIRA DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre em Produção vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Edílson Romais Schimdt
Co-orientadores: Prof. Dr. José Augusto Teixeira do Amaral
Prof. Dr. Ruimário Inácio Coelho

**ALEGRE
ESPÍRITO SANTO – BRASIL
ABRIL - 2008**

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias da Universidade Federal
do Espírito Santo, ES, Brasil)

O48m Oliveira, Márcio José Vieira, 1970-
Micropropagação e enraizamento ex vitro do mamoeiro 'tainung 01' /
Márcio José Vieira de Oliveira. – 2008.
90 f. : il.

Orientador: Edilson Romais Schmildt.

Co-Orientadores: José Augusto Teixeira do Amaral, Ruimário Inácio
Coelho.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Espírito Santo,
Centro de Ciências Agrárias.

1. Mamão. 2. Frutas Tropicais. 3. Plantas – Propagação in vitro. 4.
Biotecnologia vegetal. 5. Giberelina. 6. Tecidos (Anatomia e fisiologia) -
Cultura e meios de cultura. I. Schmildt, Edilson Romais. II. Amaral, José
Augusto Teixeira do. III. Coelho, Ruimário Inácio. IV. Universidade
Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. V. Título.

CDU: 63

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus. À minha mãe. À minha esposa e aos meus filhos. Aos meus amigos, professores, funcionários e colegas de trabalho, e a todos que contribuíram para a realização deste trabalho, mesmo que seja com um sorriso amigo e uma simples palavra de incentivo.

BIOGRAFIA

Márcio José Vieira de Oliveira nasceu em Vitória do Espírito Santo, em 1970, filho de Gênesis Souza de Oliveira, que deixou saudades, e Ester Abreu Vieira de Oliveira, professora já aposentada da Universidade Federal do Espírito Santo, PhD em literatura espanhola e teatro. Em 1992, casou-se com Maria Aparecida, com quem tem quatro filhos: Yago, Álvaro, Miguel e Nicoli. Hoje com idades de 14, 12, 10 e 6 anos. Em 1993, concluiu o curso de Técnico em Agropecuária na Escola Agrotécnica Federal de Santa Tereza. Em 1994, foi aprovado em concurso público para o cargo de vigilante federal na Escola Técnica de Colatina, de onde foi remanejado para a Escola Técnica de Vitória. Em 1995, ingressou no curso de Agronomia no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, sendo transferido do trabalho para a Escola Agrotécnica Federal de Alegre. Concluiu o curso de Engenheiro Agrônomo em 2003. Foi aprovado em concurso público para pesquisador de fruticultura no INCAPER em 2004. Em março de 2006, iniciou o curso de Mestrado junto ao programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do CCA-UFES. Em 2007, concluiu o curso de Pós-Graduação em nível de Especialização em Cultura de Tecidos Vegetais, na Universidade Federal de Lavras. Obteve o título de Mestre em Produção Vegetal em abril de 2008.

Pedras no caminho?

Junto todas, um dia vou construir um
castelo.

(Fernando Pessoa)

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

ABA - ácido indolbutírico

AIA - ácido indolilacético

ANA - ácido naftalenoacético

ABA - ácido abcísico

BAP - 6-benzilaminopurina

GA₃ - ácido giberélico

HCl - ácido clorídrico

KOH - hidróxido de potássio

MS - Meio de cultura Murashige & Skoog (1962)

NaOH - hidróxido de sódio

NaClO - hipoclorito de sódio

® - Marca registrada

2,4 - D - ácido 2,4-diclorofenoxiacético

CONTEÚDO

RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1 - INTRODUÇÃO.....	15
2 - REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 - IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA CULTURA.....	18
2.2 - CARACTERÍSTICAS DA ESPÉCIE.....	19
2.3 - PROPAGAÇÃO DO MAMOEIRO.....	21
2.4 - MICROPROPAGAÇÃO DO MAMOEIRO.....	22
2.4.1 - Fatores que interferem na micropropagação do mamoeiro.....	23
2.4.1.1 - Planta matriz e explantes.....	23
2.4.1.2 - Desinfecção.....	25
2.4.1.3 - Meios de cultura.....	26
3 - ENRAIZAMENTO DE RAMOS DE MAMOEIRO.....	30
3.1 - ENRAIZAMENTO E ACLIMATIZAÇÃO.....	30
3.2 - FATORES QUE AFETAM A RIZOGÊNE.....	31
3.2.1 - Reguladores de crescimento.....	31
3.2.2 - Luz.....	32
3.2.3 - Oxigênio.....	33
3.2.4 - Nutrientes minerais.....	33
3.2.5 - Substratos.....	34
4 - ACLIMATIZAÇÃO.....	35
5 - PERSPECTIVAS FUTURAS.....	37
6 - REFERÊNCIAS.....	39
7 - CAPÍTULO 1	
DESINFESTAÇÃO EM EXPLANTES DE MAMOEIRO TAINUNG 01.....	45

8 - CAPÍTULO 2

**USO DE GIBERELINA (GA₃) NO ALONGAMENTO DE RAMOS DE MAMOEIRO
PRODUZIDOS *IN VITRO*..... 58**

9 - CAPÍTULO 3

**ENRAIZAMENTO *EX VITRO* DE RAMOS MICROPROPAGADOS DE PLANTAS
ADULTAS DE MAMOEIRO TAINUNG 01..... 70**

10 - CONCLUSÕES GERAIS..... 89

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

- Tabela 1** - Avaliação das técnicas de desinfestação dos explantes de mamoeiro Tainung 01 aos 30 dias após a inoculação em meio MS com 5,35 mg L⁻¹ de cinetina e 0,093 mg L⁻¹ de ANA e após três subcultivos em meio MS com 0,93 mg L⁻¹ de cinetina e 0,45 mg L⁻¹ de BAP..... 54

Capítulo 2

- Tabela 1** - Resumo da análise de variância para o crescimento da parte aérea de microestacas de plantas adultas de mamoeiro Tainung 01 com diferentes níveis de giberelina (GA₃) esterilizado junto ao meio de cultura e a frio, por microfiltragem..... 65

Capítulo 3

- Tabela 1** - Comprimento, peso e número de brotações de cinco frascos coletados aleatoriamente para o primeiro teste de enraizamento *ex vitro* de microestacas de mamoeiro “Tainung 01”, que tiveram o último subcultivo em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) com 0,45 mg L⁻¹ de BAP, 0,093 mg L⁻¹ de ANA e 150 mg L⁻¹ de sulfato de adenina..... 78
- Tabela 2** - Resumo da análise de variância para o comprimento radicular de microestacas de plantas adultas de mamoeiro Tainung 01. 80
- Tabela 3** - Resumo da análise de variância para o comprimento da parte aérea de microestacas de plantas adultas de mamoeiro Tainung 01. 81
- Tabela 4** - Resumo da análise de variância para o número de raízes de microestacas de plantas adultas de mamoeiro Tainung 01. 81
- Tabela 5** - Avaliação dos experimentos 1, 2, 3 e 4 de enraizamento *ex vitro* de microestacas de mamoeiro após 45 dias da transferência das microestacas para substrato plantimax[®] hortaliças, em copos transparentes com copos descartáveis de plástico leitoso invertidos na parte superior, simulando câmaras úmidas individuais..... 82
- Tabela 6** - Resumo da análise de variância do contraste Y₁, Y₂ e Y₃ para o comprimento radicular..... 85
- Tabela 7** – Resumo da análise de variância do contraste Y₁, Y₂ e Y₃ para o comprimento da parte aérea..... 85

Tabela 8 - Resumo da análise de variância do contraste Y_1 , Y_2 e Y_3 para o número de raízes.....	85
--	----

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Produção de mamão no Brasil por Estado da federação em 2006..... 29
- Figura 2** - Explantes de plantas adultas de mamoeiro em bioreatores de imersão temporária e permanente, da esquerda para a direita respectivamente, em testes no laboratório de cultura de tecidos no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo. 23
- Figura 3** - A - Planta de mamoeiro exibindo flor do tipo hermafrodita. B – Plantas decepadas, após a identificação do sexo, submetidas à aplicação de reguladores de crescimento para estimular brotações. C - Brotações laterais no caule de plantas adultas de mamoeiro. D - Plantas jovens..... 25
- Capítulo 2**
- Figura 1** - Médias dos tratamentos para o crescimento da parte aérea de microestacas de plantas adultas de mamoeiro Tainung 01 em meio de alongamento com diferentes níveis de giberelina (GA₃) esterilizado junto ao meio de cultura e a frio, com filtro Millipore®..... 66
- Figura 2** - A e B – Ramos de mamoeiro “Tainung 01” em meio de alongamento contendo 0,5 mg L⁻¹ de GA₃ esterilizado a frio. C e D – Meio com 2,0 mg L⁻¹ esterilizado a frio. E e F – Brotos subcultivados em meio com 2,0 mg L⁻¹ de GA₃ esterilizado junto com o meio de cultura..... 67
- Capítulo 3**
- Figura 1** - A - Enraizamento ex vitro de plantas adultas de mamoeiro. B - Plantas já aclimatadas..... 79
- Figura 2** - A - Explantes apresentando sintomas de fitotoxidez por excesso de citocinina; B – Explantes recuperados. 80
- Figura 3** - Planta de mamoeiro “Tainung 01” micropropagada apresentando excelente desenvolvimento e enraizamento..... 84

OLIVEIRA, M. J. V. de, M. Sc, Universidade Federal do Espírito Santo, abril de 2008. **Micropropagação e enraizamento *ex vitro* do mamoeiro “Tainung 01”**. Orientador: Prof. Dr. Edílson Romais Schmildt. Co-orientadores: Prof. Dr. José Augusto Teixeira do Amaral; Prof. Dr. Ruimário Inácio Coelho.

RESUMO

Objetivou-se determinar alguns fatores que possam contribuir para a micropropagação e a rizogênese *ex vitro* de ramos de mamoeiro, buscando viabilizar a técnica de micropropagação de modo eficiente e econômico. Apresenta resultados de testes realizados na desinfestação de explantes de plantas juvenis e plantas adultas com a utilização de rifampicina 300 mg L⁻¹ em agitação por 24 horas e identificação do melhor tempo de exposição em níveis de hipoclorito de sódio. Obtendo-se o melhor resultado quando se utilizou álcool 70% durante 60 segundos, hipoclorito de sódio 1% durante 20 minutos e em seguida três lavagens em água estéril, rifampicina 300 mg L⁻¹ em agitação por 24 horas, hipoclorito de sódio 0,6% durante 15 minutos e mais três lavagens em água estéril, na desinfestação de plantas adultas de mamoeiro. Avaliou-se o efeito da adição de GA₃ no meio de cultura nos níveis de 0, 0,5 e 2,0 mg L⁻¹ esterilizados a frio e autoclavados junto ao meio de cultura nos mesmos níveis, obtendo-se os melhores resultados nos níveis de 0,5 e 2,0 mg L⁻¹ esterilizados a frio. Para o trabalho com enraizamento *ex vitro*, os explantes foram inoculados em meio de indução MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), contendo 0,093 mg L⁻¹ de ANA, 5,38 mg L⁻¹ de cinetina e transferidos para o meio MS com 0,45 mg L⁻¹ de BAP e 0,93 mg L⁻¹ de cinetina por três subcultivos, quando então, foram transferidos para meio MS contendo 0,50 mg L⁻¹ de BAP e 0,10

mg L⁻¹ de ANA, eliminando assim os efeitos tóxicos do excesso de citocinina. Avaliou-se o enraizamento *ex vitro* no delineamento inteiramente casualizado, com 16 tratamentos, para tanto, os explantes foram transferidos no último subcultivo para meio com 0,45 mg L⁻¹ de BAP e 0,93 mg L⁻¹ de auxina, com 8 repetições, o meio 0,45 mg L⁻¹ de BAP e 0,93 mg L⁻¹ (T5, T6, T7 e T8), com 5 repetições, 0,23 mg L⁻¹ de BAP, 0,19 mg L⁻¹ de ANA e 2,0 mg L⁻¹ de GA₃ (T9, T10, T11 e T12), com 12 repetições, e 0,23 mg L⁻¹ de BAP, 0,19 mg L⁻¹ de ANA e 0,5 mg L⁻¹ de GA₃, com 8 repetições. Cada parcela foi composta por uma planta. Dentro dos tratamentos com plantas oriundas de diversos meios de cultura, foram testados níveis de ANA, aplicados às extremidades basais das estacas (0, 10, 100, 1000 mg L⁻¹), carvão de madeira moído e boro, com zinco e cálcio. A aplicação de ANA na base das estacas de plantas adultas de mamoeiro não apresenta resultados significativos entre as concentrações de 0 e 10 mg L⁻¹ em todos os meios de cultura provenientes do último subcultivo testados. Alguns resultados foram significativos, incluindo a aplicação de carvão de madeira moída e solução de ácido bórico 0.006 mg L⁻¹. Concluiu-se que para o enraizamento *ex vitro* de explantes provenientes de meios com alta concentração de auxina é melhor que em meios com baixa concentração e ambos são superiores aos explantes subcultivados por último, em meios com GA₃.

Palavras-chave: *Carica papaya*, micropropagação, mamão, enraizamento *ex vitro*.

OLIVEIRA, M. J. V. de, M. Sc, Universidade Federal do Espírito Santo, abril de 2008. **Micropropagation and rooting *ex vitro* “Tainung 01” tree.** Advisor: Prof. Dr. Edilson Romais Schmildt. Co-advisors: Prof. Dr. José Augusto Teixeira do Amaral; Prof. Dr. Ruimário Inácio Coelho.

ABSTRACT

It aimed at determining some factors that may contribute to micropropagation and rooting *ex vitro* of branches of papaya tree in order to make the technique viable in an efficient and economic way. It presents results of tests performed during the disinfection of explants of young and adult plants with rifampicin 300 mg L⁻¹ in agitation for 24 hours and identification of the best time of exposition to levels hypochlorite of sodium. Better results were obtained when using 70% alcohol during 60 seconds, hypochlorite of sodium 1% during 20 minutes followed by three washings in sterile water, rifampicin 300 mg L⁻¹ in agitation for 24 hours followed by three washings of sterile water, in the disinfection of adult papaya tree plants, it was evaluated the effects of adding GA₃ in the culture medium in the levels of 0, 0,5 and 2,0 mg L⁻¹ sterilized with cold and high nailed in the culture medium at the same levels, obtaining the best results in the levels of 0,5 and 2,0 mg L⁻¹ sterilized with cold. For performing *ex vitro* rooting, the explants were inoculated in induction MS medium (MURASHIGE & SKOOG, 1962), containing 0,093 mg L⁻¹ of ANA, 5,38 mg L⁻¹ of cinetin and transferred to MS medium with 0,45 mg L⁻¹ of BAP and 0,93 mg L⁻¹ of cinetin in three subcultivations, when they were then transferred to MS medium containing 0,50 mg L⁻¹ of BAP 0,10 mg L⁻¹ of ANA, thus, eliminating the toxic effects of the excess of citocinine. It evaluated the *ex vitro* rooting in the completely randomized design, with 16 treatments. In order to do so, in the last subcultivation, the explants were transferred to a medium with 0,45 mg L⁻¹ of BAP and 0,93 mg L⁻¹ of auxin, with 8 repetitions, the medium 0,45 mg L⁻¹ of BAP and 0,93 mg L⁻¹ (T5, T6, T7 e T8), with 5 repetitions, 0,23 mg L⁻¹ of BAP, 0,19 mg L⁻¹ of ANA and 2,0 mg L⁻¹ of GA₃ (T9, T10, T11 e T12), with 12 repetitions, and 0,23 mg L⁻¹ of BAP, 0,19 mg L⁻¹ of ANA and 0,5 mg L⁻¹ of GA₃, with 8 repetitions. Each part was composed by one plant. In the treatments with plants from different culture medium were also tested the levels of ANA (Naphthaleneacetic Acid), applied to the basal extremes of the stakes (0, 10, 100, 1000 mg L⁻¹), grind wood charcoal and boron, with zinc and calcium. The

application of ANA in the base of the stakes of adult papaya plants did not show significant results between the concentrations of 0 and 10 mg L⁻¹ to all the culture medium previously tested. Some results were significant, including the application of grind wood charcoal and a solution of boric acid 0.006 mg L⁻¹. It concludes that for rooting *ex vitro* of explants from medium with high concentration of auxin is better than in medium with low concentration and both are superior to the explants subcultivated in the last time by the medium with GA₃.

Key words: *Carica papaya*, micropropagation, papaya, *ex vitro* rooting

1- INTRODUÇÃO

O Brasil se destacou como maior produtor mundial de mamão com um acréscimo de 156,2% na quantidade produzida, entre os anos de 1987 e 2005. No entanto, em 2005, apesar de ter tido uma produção de 1.650.000 t, o Brasil ocupou a segunda colocação no mercado de exportação mundial, com 35.930 toneladas, produzindo menos que o México, o qual exportou 58.149 t (OLIVEIRA JUNIOR, 2006).

Dentre os problemas relacionados com a cultura do mamoeiro, ressalta-se a limitação de alternativas quanto à escolha de cultivares e de híbridos comerciais para o plantio que atendam às exigências do mercado nacional e internacional. Nos plantios comerciais, o mamoeiro, normalmente, é propagado por sementes selecionadas de plantas hermafroditas com características desejáveis pelos produtores.

O “Surinse solo”, principal cultivar do grupo solo plantada no Brasil, tem o seu rendimento limitado a 40 a 60 t/ha, sendo extremamente susceptível ao vírus do mosaico, com frutos de casca que, comumente, apresentam sintomas de mancha fisiológica, além de a polpa ser pouco consistente para a exportação. Aliado a isso, o elevado preço das sementes híbridas dos mamoeiros do grupo Formosa, importadas, geralmente de Taiwan, que atingem 3.500 a 4.000 dólares o quilograma, levam muitos fruticultores a utilizar plantios sucessivos com gerações F2, F3 e F4 do híbrido “Tainung 01”, acarretando inúmeros problemas, sobretudo, perda do vigor e segregação no formato do fruto (PEREIRA, 2003). Segundo Andreani Junior (1998), os frutos produzidos pelas plantas hermafroditas têm formato alongado, apresentando uma cavidade interna pequena em relação à polpa, sendo o tipo de fruto ideal exigido tanto pelo mercado interno como externo.

Sementes obtidas de frutos onde ocorreu autofecundação em mamoeiros do grupo solo em geral produzem progênies uniformes, porém, devido à segregação, originam plantas hermafroditas e femininas em proporção 2 : 1. Este fato obriga os produtores a plantarem três mudas por cova e a aguardarem 3 a 4 meses para identificar o sexo das plantas, através dos botões florais, para, então, realizar o desbaste das plantas femininas. Nessa operação, são deixadas apenas as plantas hermafroditas, que produzem frutos de maior valor comercial. Essa prática aumenta os custos de produção devido ao tempo em que esses mamoeiros permanecem competindo com os demais em água, luz, nutrientes e tratos culturais exigidos. Após o desbaste, cerca de 3 a 7% de plantas femininas permanecem, pois as três mudas plantadas podem pertencer ao sexo feminino (MARIN & GOMES, 1985; SCHMILDT, 2003). Para híbridos do grupo Formosa, a situação se agrava, pois quando se planta sementes da geração F1 espera-se uma proporção de 1 : 1 (hermafroditas e femininas), pois o híbrido provém do cruzamento de progenitores híbridos e femininos, como constatado, a campo no Norte do Estado do Espírito Santo por Costa & Pacova (2003) e no sul do Estado por Schmildt (2003), que, mesmo plantando-se três mudas por cova, ainda existirão 12,5% de plantas femininas, maior proporção, portanto, que no grupo solo.

Muitos são os esforços na tentativa de se obter um método eficiente na determinação de sexo mais precocemente em mudas de mamoeiro, antes que elas sejam transplantadas no campo. Porém, nenhuma metodologia ainda foi efetivamente alcançada. Entre as pesquisas que foram desenvolvidas para a determinação do sexo, precocemente de mudas de mamão, há resultados positivos do uso de marcadores moleculares (RAPD e FAFLP). Entretanto, o custo para em *sexing* de campo é muito alto, tornando tal prática inviável (SANTOS et al., 2003). Uma forma de viabilizar essa técnica seria por meio de propagação vegetativa. A propagação vegetativa por estaquia ou por enxertia é uma tecnologia bastante aplicada a plantas frutíferas, visto que mantêm as características desejáveis da planta matriz. Além da precocidade na produção, esse método tem apresentado resultados positivos para mamoeiro. Entretanto, essa técnica deve ser analisada de maneira comparativa com a propagação convencional por sementes, quanto à sua viabilidade técnica e econômica, para utilização em escala comercial (COSTA & COSTA, 2003).

Nas últimas décadas, diversas técnicas de biotecnologia têm sido empregadas em apoio a programas de melhoramento de mamoeiro, tais como: o resgate de embriões, a cultura de anteras e de protoplastos, a produção de sementes artificiais, a micropropagação, os marcadores moleculares e as transformações gênicas (ALMEIDA et al., 2001). Também já foi investigada a iniciação e a germinação de embriões somáticos durante o processo de regeneração de plantas a partir de segmentos de raiz de mamoeiro (YU et al., 2000). Pesquisas dirigidas para a obtenção de mamoeiros, geneticamente modificados, visando à resistência à mancha anelar, estão em andamento (SOARES FILHO & DANTAS, 2003). As primeiras plantas obtidas estão sendo avaliadas para características agrônomicas e de resistência (MANICA, 2006). Nesse contexto, o desenvolvimento da técnica de micropropagação de explantes por meio da cultura de tecidos se destaca como uma “ferramenta biotecnológica” de enorme utilidade na produção em larga escala de clones com características superiores, de sexos definidos e livres de viroses (VIANNA, 1996).

Apesar de ser muito promissor o enraizamento *ex vitro* de microestacas de mamoeiro, Schmidt (1994) observou entraves na rizogênese do mamoeiro. Segundo Zaidan (2002), estas necessitam de um rigoroso controle das condições ambientais por serem extremamente sensíveis com relação, principalmente, à temperatura e a umidade relativa do ar.

O objetivo deste trabalho foi contribuir para a constituição de um protocolo visando adequar o enraizamento *ex vitro* de explantes de mamoeiro “Tainung 01”.

O estudo abrangeu todas as etapas da micropropagação, desde a fase anterior à micropropagação propriamente dita, estágio 0 de George & Sherrington (1984), passando pela desinfestação dos explantes, multiplicação, alongamento e enraizamento *ex vitro* do mamoeiro. Avaliou-se também a possibilidade de uso da giberelina (GA_3) para o alongamento das plantas. No enraizamento *ex vitro*, foram testados os efeitos do meio de cultura utilizados no último subcultivo *in vitro* e tratamentos aplicados às bases das microestacas antes da sua transferência para o substrato, sendo estas: imersão em diferentes concentrações de ANA, ácido bórico e posterior passagem das extremidades basais das microestacas em carvão de madeira moído.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - Importância econômica da cultura

Os maiores produtores mundiais de mamão são: Brasil, México, Nigéria, Índia, Indonésia e Etiópia, dentro da respectiva ordem de produção. A produção brasileira, segundo a FAO (2007), em 2004, foi de 1.612.350 toneladas de mamão, quase o dobro da produção do México. Embora com menor produção do que o Brasil, o México lidera o mercado internacional dessa fruta, tendo exportado a quantidade de 96.525 toneladas, em 2004, seguido da Malásia, com 58.149 toneladas de frutos de mamão exportados. Apesar de o Brasil ser o maior produtor mundial de mamão, só exportou 2,17% no mesmo período, com oferta de 35.930 toneladas, ficando restrito à oferta da fruta ao mercado interno (OLIVEIRA JUNIOR, 2006).

De acordo com dados do IBGE (2008), destaca-se um crescimento de 95% na produção brasileira de mamão de 2000 até 2006, devido a um aumento na produção dos Estados da Bahia e do Espírito Santo que tiveram um crescimento de 3,7 e 2,8 vezes respectivamente em suas produções. Outro Estado que teve um incremento considerável na produção foi o Ceará que, em 1990, produziu apenas 6.380 toneladas de mamão e, em 2004, 75.247 toneladas, em 2006, com oferta de 62.856 toneladas do produto. Em 2006, os Estados da Bahia e do Espírito Santo ofertaram 87,8% da produção brasileira de mamão (Figura 1), sendo a Bahia, o primeiro produtor, com 48,2%, e o Espírito Santo, o segundo, com 39,7%.

O Ceará vem em terceiro lugar (Figura 1) com apenas 3%. Entretanto, sua produção é bem inferior à dos Estados da Bahia e do Espírito Santo. A produção de

mamão dos outros Estados, em 2006, representou apenas 6,7% da brasileira (IBGE, 2008).

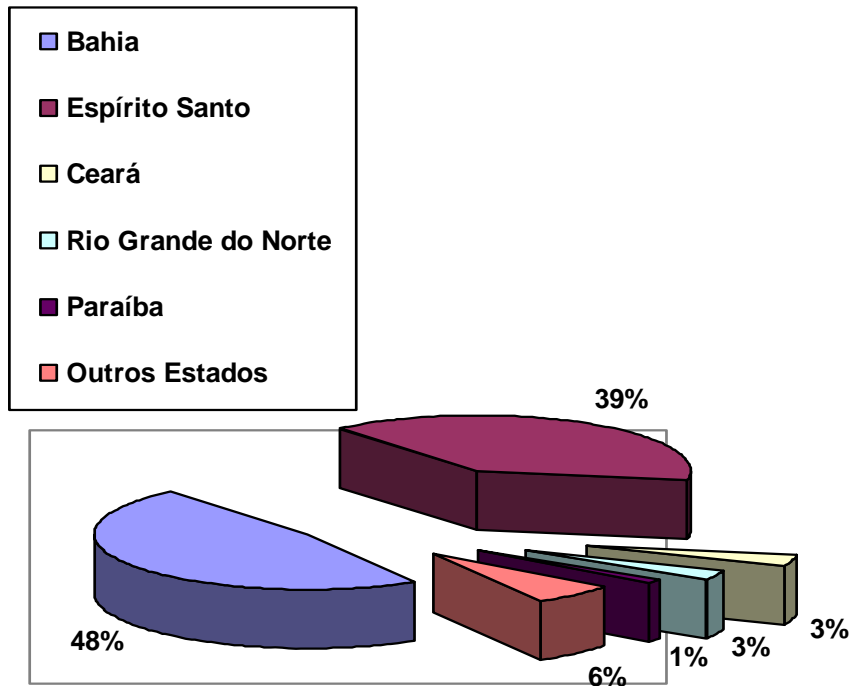


Figura 1 - Produção de mamão no Brasil por Estado da federação em 2006. Fonte: IBGE, (2008).

2.2 - Características da espécie

O mamoeiro (*Carica papaya L.*) é pertencente à classe Dicotyledonae, subclasse Archichlamydeae, ordem Violales, subordem Caricinenae, família Caricaceae e gênero *Carica*. É originário da região Noroeste da América do Sul e Sul do México, sendo que a diversidade genética máxima desta espécie se encontra na Bacia Amazônica Superior. A família Caricaceae possui cinco gêneros e 34 espécies, sendo nativa da zona neotropical, excetuando-se apenas duas da África Equatorial, sendo o mamoeiro caracterizado, portanto, como tipicamente tropical (COSTA & PACOVA, 2003). Apresenta, entretanto, ampla distribuição geográfica, o que demonstra a grande capacidade de adaptação a diferentes condições climáticas. Em cada condição, há um determinado comportamento das plantas, o

que resulta em variações entre localidades e entre os anos nas características fenológicas do florescimento e produção de frutos (JESUS JUNIOR et al., 2007).

O caule do mamoeiro é cilíndrico, com 10 a 30 centímetros de diâmetro, fistuloso, ereto, as folhas são dispostas em forma espiral na parte superior da planta. A altura das plantas pode variar de 3 a 8 metros. O sistema radicular é pivotante, com raiz principal bastante desenvolvida. Há ocorrência de vasos lactíferos em todas as partes da planta. As folhas de *Carica papaya L.* apresentam limbo amplo, com até 70 cm de diâmetro, orbicular, profundamente palmatilobadas, com 7 a 13 nervuras principais. Apresentam pecíolos, fistulosos com 50 a 70 cm de comprimento (ANDRADE, 1980).

Storey (1941) classificou as flores do mamoeiro em seis categorias aceitas pelos melhoristas de *papaya*. As diversas variações nos tipos de flores são encontradas em plantas hermafroditas e masculinas, enquanto que as femininas só apresentam um tipo de flor. Para efeitos práticos, em nível de campo, Marin & Gomes (1985) citam que o mamoeiro apresenta basicamente três tipos de flores, as quais levam à classificação das plantas, como: hermafroditas, femininas e masculinas. Para Costa & Pacova (2003), as plantas hermafroditas de mamão, de maneira geral, têm uma inflorescência relativamente curta com predominância de flores hermafroditas. As plantas femininas têm uma inflorescência curta, na qual apresenta somente flores femininas, enquanto que as plantas masculinas são caracterizadas pelo maior comprimento do pedúnculo, com muitas flores cimosas, com ovário rudimentar e estéril. De acordo com Zaidan (2002), a separação dos sexos em plantas diferentes é encontrada em importantes plantas cultivadas, incluindo *Carica papaya* (Mamão), *Actinidia chinensis* (kiwi), *Asparagus officinalis* (aspargo), *Cannabis sativa* (Cânhamo), *Humulus lupulus* (lúpulo, utilizado na fabricação de cerveja) e *Vitis vinifera*, (uva).

Como o mamoeiro é uma espécie polígama, ou seja, apresenta diferentes formas sexuais, o tipo floral da planta influenciará na forma e característica dos frutos. Geralmente, plantas masculinas não produzem frutos e quando o fazem, não são aproveitados comercialmente. As plantas femininas, apesar de produtivas, acabam produzindo frutos de formato arredondado ou ligeiramente ovalados, cuja cavidade interna é grande em relação à espessura da polpa, o que os desvaloriza comercialmente. Os frutos produzidos pelas plantas hermafroditas têm formato alongado apresentando uma cavidade interna pequena em relação à polpa, sendo o

tipo de fruto ideal exigido tanto pelo mercado interno quanto para o externo (ANDREANI JUNIOR, 1998).

2.3 - Propagação do mamoeiro

A propagação do mamoeiro pode ser realizada por meio de sementes, porém induz à ocorrência de variações genéticas indesejáveis devido à polinização aberta, resultando na mistura de genótipos. Além disso, apresenta problemas na germinação, pela ocorrência de substâncias inibidoras presente no arilo, uma vez que as sementes podem perder o poder germinativo em períodos relativamente curtos (COUTO, 1983). Em alguns casos, ainda se usa a germinação em leiras ou canteiros, com posterior repicagem para os recipientes de produção de mudas. Entretanto, normalmente, a sementeira é feita em sacos plásticos, bandejas de isopor e tubetes. As sacolas de polietileno com filme de 0,006 cm de espessura são as mais utilizadas, nas dimensões de 7,0 x 18,5 ou 15 x 25 cm, correspondentes à largura e altura, respectivamente (EMBRAPA, 2005).

O mamoeiro inicia sua produção cerca de oito a dez meses após o plantio das mudas no campo, dependendo da região. Na sexagem das mudas, isto é, no processo de identificação do sexo da planta, eliminam-se duas das três plantas plantadas por cova (desbaste), por ocasião do florescimento, deixando-se na cova apenas a muda que possui a flor hermafrodita. Recomenda-se utilizar os espaçamentos de 3,00 x 2,00 a 3,00 x 2,50 m para variedades do grupo Solo e a adoção do espaçamento 4,0 x 2,0 m para variedades do grupo Formosa (ONO et al., 2004).

No caso da propagação vegetativa de espécies agronômicas, as formas mais utilizadas são: por estaquia, mergulhia, enxertia, rebentos e estolhos, apresentando as vantagens da fácil obtenção das mudas e conservação das características da planta matriz (LAERA & CASTELLO, 1986). A obtenção de mudas clonais de mamoeiro, via estaquia (COSTA & COSTA, 2003) e enxertia (ARAÚJO & YAMANISHI, 2003), permite uma redução do custo operacional em mais de 60%, eliminando-se o plantio de três mudas por cova. Além disso, as plantas obtidas por propagação vegetativa apresentam: alto potencial genético, maior precocidade de produção, menor altura de inserção da primeira florada, alta produtividade e uniformidade do fruto (COSTA & COSTA, 2003).

Apesar dos métodos de propagação vegetativa para a obtenção de mudas serem ferramentas promissoras (COSTA & PACOVA, 2003), segundo Vianna (1996), não são métodos eficientes para propagação em larga escala. Segundo Schmildth (2003), o rendimento é baixo, porque, além de nem todos os genótipos produzirem quantidade significativa de brotações, não se tem conseguido reproduzir os bons resultados alcançados em trabalhos citados na literatura.

Com as técnicas da cultura de tecidos, muitas espécies propagadas assexuadamente podem ser exploradas. Uma vez que a produção de propágulos clonais pode ser atingida, rapidamente, mas de maneira uniforme, permitem a renovação anual da lavoura, além de possibilitar a produção de mudas livres de doenças sistêmicas, causadas, principalmente, por vírus, bactérias, micoplasmas e fungos (BORÉM, 2001).

2.4 - Micropropagação do mamoeiro

As principais vantagens desse sistema de propagação são: altos coeficientes de multiplicação que permitem manipular volumes elevados de plantas em curtos espaços de tempo; introdução rápida de novas variedades ou clones; produção independente das condições ambientais; melhoria da qualidade fitossanitária das plantas; uniformidade das plantas produzidas; e maior facilidade de comercialização (PIZA & PINHO, 2002). Assim a viabilidade econômica da micropropagação é fundamentada no plantio de mudas rigorosamente sadias, multiplicação dos melhores clones, além da identificação do sexo da planta antes do plantio definitivo no campo (RUGGIERO et al. 2003).

A multiplicação *in vitro* pode ser obtida em larga escala, resultando na instalação de verdadeiras biofábricas comerciais, baseadas no princípio da linha de produção que, algumas vezes, pode ser automatizada (PASQUAL, 2001b). No que se refere à automatização, Goto et al. (2003) afirmam que algumas empresas, no Japão, têm desenvolvido protótipos de robôs que realizam o processo de enxertia de hortaliças. Isso leva a crer que a automatização também seria possível para a micropropagação. Pasqual (2001b) cita três alternativas principais para a propagação *in vitro* em larga escala:

- 1 - automação/mecanização dos procedimentos de rotina da micropropagação, tais como: preparo de meios de cultura, repicagem das culturas e aclimatização de plantas micropropagadas;
- 2 - desenvolvimentos de novas tecnologias baseadas na utilização de sistemas de micropropagação em meio líquido (Figura 2);
- 3 - desenvolvimentos de sistemas alternativos de cultivo "in vitro".



Figura 2 - Explantes de plantas adultas de mamoeiro em bioreatores de imersão temporária e permanente, da esquerda para a direita respectivamente, em testes no laboratório de cultura de tecidos no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo.

2.4.1 - Fatores que interferem na micropropagação do mamoeiro

2.4.1.1 - Planta matriz e explantes

O explante é a parte da planta que é cultivado em meio artificial com o objetivo de iniciar um sistema de regeneração *in vitro* (SOUSA et al., 2006a). Dos aspectos a serem considerados na seleção do explante, o que tem maior influência na resposta morfogênética é seu nível de diferenciação e a fase de desenvolvimento em que se encontra o tecido (SOUSA et al., 2006a).

Um estágio 0, que corresponde aos tratamentos dados à planta matriz, de onde são retirados os explantes, foi proposto por George & Sherrington (1984), acrescentado ao conceito de estágios de desenvolvimento no processo de propagação *in vitro* esquematizado por Murashige (1974). Tais tratamentos se

justificam pela alta incidência de contaminação microbiana, altos níveis de exudação de polifenóis, e dificuldade na indução de raízes apresentadas na micropropagação de plantas adultas de espécies arbóreas. Para essas espécies o rejuvenescimento e o estabelecimento de características juvenis antes do cultivo *in vitro* tornam-se importantes (JUNGHANS & SANTOS-SEREJO, 2006).

Uma vez que cada espécie ou clone apresenta características únicas, determinadas por fatores genéticos, as necessidades para seu cultivo *in vitro* também são únicas. Diferentes espécies e cultivares possuem características genéticas próprias às quais respondem diferentemente do cultivo *in vitro*. Além disso, o desenvolvimento vegetal é profundamente afetado pelo ambiente e por sinais endógenos, tais como reguladores de crescimento, que modulam programas genéticos (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998). Dependendo do segmento de tecido ou órgão vegetal, utilizado para iniciar a cultura *in vitro*, as respostas morfogenéticas *in vitro* são diferenciadas (JUNGHANS & SANTOS-SEREJO, 2006). A calogênese pode provocar alterações irreversíveis nas células, comprometendo o processo de clonagem. Quando a opção é utilizar um tecido já diferenciado, como folhas, por exemplo, deve-se dar preferência aos tecidos mais jovens (SOUSA et al., 2006a).

A capacidade de regeneração e crescimento *in vitro* parece estar associada não apenas ao genótipo, mas também à atividade fisiológica na planta-matriz, sob o controle de diversos fatores endógenos. O verdadeiro desafio, portanto, está no material vegetal e na sua manipulação antes de excisar o explante inicial, e em todos os passos até o transplante da planta produzida. Esta manipulação inclui o manejo da planta-matriz (FIGURA 3), as características do explante utilizado, o procedimento de subcultivo adotado, as condições ambientais e microambientais dentro do frasco de cultura e o transplante. Todas essas etapas são influenciadas por diversas variáveis, que podem restringir a repetição dos resultados, dificultando a determinação de um protocolo efetivamente comercial de micropropagação (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).



Figura 3 - A - Planta de mamoeiro exibindo flor do tipo hermafrodita. B - Plantas decepadas, após a identificação do sexo, submetidas à aplicação de reguladores de crescimento para estimular brotações. C - Brotações laterais no caule de plantas adultas de mamoeiro. D - Plantas jovens.

2.4.1.2 - Desinfestação

Os tratamentos de desinfestação devem ser feitos para eliminar os microorganismos contaminantes, notadamente bactérias e fungos, bem como para evitar a contaminação ocasionada por ácaros e tripses, sendo estes mais fáceis de serem controlados (SOUSA et al., 2006a).

A contaminação bacteriana limita o sucesso da micropropagação. Embora alguns contaminantes possam agir de forma direta sobre o crescimento e desenvolvimento dos explantes, a maioria compromete o desenvolvimento normal dos cultivos, de forma indireta, pela competição por nutrientes e vitaminas do meio de cultura e pela produção de metabólitos fitotóxicos como os ácidos láctico e acético, e o cianeto. Além disso, certos reguladores de crescimento e antibióticos intoxicam os tecidos vegetais, podendo, inclusive, levá-los à morte (LIMA & MORAES, 2006). As contaminações bacterianas são realmente mais drásticas e trazem duas conseqüências básicas: perda de tempo e recursos financeiros ou genéticos, pela eliminação de frascos contaminados, e riscos de distribuição de

plantas contaminadas (SOUSA et al., 2006a). A presença de bactérias endógenas em algumas espécies vem dificultando sobremaneira o estabelecimento de protocolos de micropropagação de muitos materiais. Microorganismos endofíticos têm sido isolados da maioria das plantas cultivadas e, provavelmente, isto se aplica também às plantas silvestres (ROMEIRO, 2005). Alguns desses agentes podem ser agentes de biocontrole de enfermidades ou promotores de crescimento e, mesmo que a maioria não apresente qualquer efeito detectável, alguns são deletérios (ROMEIRO, 2005).

Estudos preliminares revelam que descontaminantes, como o álcool e hipoclorito de sódio, tenham ação superficial, não controlando satisfatoriamente a contaminação endofítica. A adição de componentes como o detergente Tween, por exemplo, e o pré-tratamento com álcool tem sido recomendado para facilitar a penetração de hipoclorito de sódio em pequenas cavidades da superfície das plantas. Em seguida, os explantes devem ser enxaguados em água estéril para que não haja comprometimento dos tecidos (VIANNA, 1996).

Em se tratando de bactérias, tem-se utilizado antibióticos tanto na desinfestação quanto no meio de cultura para minimizar os danos. Segundo Zaidan (2002), o antibiótico rifampicina, pertencente ao grupo das rifamidas, é indicado no controle de bactérias gram-positivas e gram-negativas, sendo considerado eficiente na eliminação da contaminação endofítica em cultura de tecidos de várias plantas. Lima & Moraes (2006) constataram sintomas de toxidez em explantes de bananeiras *Musa* AAA cv caipira, devido à utilização do antibiótico rifampicina no meio de cultura, não sendo constatados os mesmos efeitos quando os explantes permaneceram em agitação na solução por 24 horas e inoculados em meio isento do antibiótico. Vianna (1996), utilizando o antibiótico rifampicina, em meio de cultura ou em imersão prévia por 24 horas sob agitação, obteve 70% de descontaminação e concluiu que a dose de 50 mg L⁻¹ é eficiente no controle da contaminação bacteriana de explantes de mamoeiro cv “Tainung 01”.

2.4.1.3 - Meios de cultura

Os meios nutritivos utilizados para a cultura de células, tecidos e órgãos de plantas, fornecem as substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos e

controlam, em grande parte, o padrão de desenvolvimento *in vitro* (CALDAS et al., 1998).

Diferentes formulações de meios são empregadas no cultivo *in vitro* de explantes. Os meios de cultura podem conter:

a) água - É o componente de maior quantidade no meio. A água deve ser destilada e deionizada ou bi-destilada para uso nos meios, pois as impurezas nela contidas podem afetar o crescimento de tecidos *in vitro*.

b) nutrientes:

- macros - N, P, K, Ca, Mg, S: os elementos minerais exigidos em maiores quantidades para o crescimento de plantas inteiras são incluídos nos meios nutritivos na forma de sais inorgânicos, podendo o nitrogênio e o enxofre serem adicionados também como componentes de suplementos orgânicos (aminoácidos por exemplo);

- micros - Fe, Mn, Zn, B, Cu, Cl, Mo, Co, I: incluem todos aqueles elementos minerais aceitos atualmente como essenciais para plantas clorofiladas, além do cobalto, que é essencial para as bactérias fixadoras de nitrogênio e do iodo que em alguns casos estimula o crescimento de explantes *in vitro*.

c) substâncias reguladoras do pH - HCl, NaOH - São utilizados em concentrações variáveis durante o ajuste do pH do meio de cultura.

d) carboidratos - As células, tecidos e plântulas cultivadas *in vitro* não encontram condições adequadas de iluminação e concentração de CO₂ e, às vezes, não apresentam teores de clorofila suficientes para realizar fotossíntese que sustente o crescimento. A sacarose é o carboidrato mais utilizado nos meios nutritivos, sendo que esse açúcar suporta as mais altas taxas de crescimento na maioria das espécies. A concentração de sacarose mais utilizada é a de 3%.

e) vitaminas - Para algumas espécies cultivadas *in vitro*, há necessidade de aumentar a concentração de vitaminas, sendo, às vezes, preciso acrescentar outros tipos à mistura padrão [Tiamina (vitamina B1), ácido nicotínico (niacina), piridoxina (vitamina B6), glicina (aminoácido)]. No caso de cultura de tecidos somáticos de Citrus, se utilizam, também, as vitaminas: ácido fólico, riboflavina, biotina e ácido ascórbico.

f) mio-inositol - Está implicado na síntese de paredes celulares em células cultivadas e em protoplastos. A concentração mais utilizada de mio-inositol nos meios é de 100mg. L⁻¹.

g) reguladores de crescimento ou hormônios - A composição e concentração de hormônios no meio de cultura são fatores determinantes no crescimento e no padrão de desenvolvimento da maioria dos sistemas de cultura de tecidos (CALDAS et al., 1998). O balanço nutricional e hormonal do meio é dependente de vários fatores, da fase do cultivo e da demanda de cada espécie, não existindo um receituário que possa ser utilizado em larga escala para diferentes materiais. O balanço entre auxinas e citocininas determina o desenvolvimento da planta nas diversas fases. Normalmente, para a produção de gemas e múltiplos brotos utiliza-se um balanço rico em citocinina, enquanto que para o enraizamento, doses maiores de auxinas são mais indicadas. Já para o alongamento, faz-se a adição de giberelinas (SOUSA et al., 2006a).

O ácido giberélico (GA_3) é empregado na micropropagação do mamoeiro, para se promover o alongamento dos brotos (MANICA, 2006). Segundo George & Sherrington (1984), as giberelinas têm como principal efeito estimular o crescimento de órgãos já formados, mas podem inibir a iniciação de outros processos de formação de órgãos. O GA_3 tem seu efeito mais pronunciado em espécies anãs ou que exibem a forma de crescimento em roseta, bem como membros da família das gramíneas (TAIZ & ZEIGER, 2004).

O ácido abscísico (ABA) é um hormônio que tem sido utilizado, nos meios de cultura, para estimular o desenvolvimento de embriões somáticos de várias espécies, aumentando a frequência de embriões somáticos formados e evitando a germinação precoce destes (GUERRA et al., 1998).

O etileno é um regulador de crescimento em forma gasosa, produzido por células vegetais, até mesmo, por células *in vitro*. Esse composto pode influir no padrão de desenvolvimento das culturas, mas sua síntese, ou melhor, a sua presença nas culturas é, normalmente, regulada mais pelo tipo de fechamento ou vedação feito nos frascos de cultura do que pela composição do meio (CALDAS et al., 1998). De acordo com Taiz & Zeiger (2004), a síntese do etileno é estimulada por vários fatores, incluindo o estágio de desenvolvimento, condições (ambientais) de cultura, outros hormônios vegetais e lesões físicas e químicas.

h) carvão ativado - É utilizado para a adsorção de substâncias tóxicas presentes no meio.

i) antibióticos e fungicidas - São empregados nos tratamentos de desinfestação para eliminar os microrganismos contaminantes. (Sousa et al., 2006a).

j) ágar e semelhantes - A preferência por um ou outro agente de solidificação depende da espécie de planta e das condições de cultivo. Uma das diferenças entre agentes de solidificação está no grau de impurezas de cada um, dependendo da marca e do grau de pureza (CALDAS et al., 1998).

Vale ressaltar que a existência de um protocolo básico para uma determinada espécie não significa que possa ser aplicado para todos os cultivares, necessitando, na maioria das vezes, pesquisas para definição de processos de otimização, à medida que novos materiais de interesse surjam (SOUSA et al., 2006b).

Segundo Manica (2006), na literatura, são recomendados para o mamoeiro os meios: MS + 10,76 mg L⁻¹ CIN + 0,04 mg L⁻¹ ANA; MS + 10,76 mg L⁻¹ CIN + 2,24 mg L⁻¹ ANA; MS + 5,38 mg L⁻¹ a 10,76 mg L⁻¹ CIN + 0,11 a 0,22 mg L⁻¹ ANA; e ½ MT (Murashige & Tucker, 1969) + 0,50 mg L⁻¹ BAP + 0,20 mg L⁻¹ ANA ou MS + 10,00 mg L⁻¹ CIN + 2,00 mg L⁻¹ ANA, para o estabelecimento.

Na fase da multiplicação, são utilizados os seguintes meios: MS + 0,45 mg L⁻¹ BAP + 0,22 mg L⁻¹ ANA; MS + 0,45 mg L⁻¹ BAP; MS + 0,50 mg L⁻¹ BAP + 0,20 mg L⁻¹ ANA; MT + 0,50 mg L⁻¹ + 0,10 mg L⁻¹ ANA; MS + 0,50 mg L⁻¹ BAP + 0,10 mg L⁻¹ ANA; MS + 0,23 mg L⁻¹ BAP + 0,19 mg L⁻¹ ANA; ou MS + 0,50 mg L⁻¹ BAP + 0,10 mg L⁻¹ ANA.

Quando as plântulas apresentam um desenvolvimento insatisfatório da parte aérea, torna-se necessário promover um alongamento antes do enraizamento. Isso pode ser feito pelo cultivo em meio de cultura MS + 1,00 mg L⁻¹ CIN + 0,05 mg L⁻¹ ANA ou MS + 0,23 mg L⁻¹ BAP + 0,19 mg L⁻¹ ANA + 1,00 mg L⁻¹ GA₃ (MANICA, 2006). Schmildt (2006) e Schmildt et al. (2007) obtiveram um melhor padrão de desenvolvimento dos ramos em meio de multiplicação contendo 30 mg L⁻¹ de sulfato de adenina comparando seu efeito como uma citocinina fraca.

O pH do meio afeta a disponibilidade dos nutrientes e substâncias reguladoras de crescimento. Em meios gelificados, o pH deve ser ajustado para 5,7, pois em pH 5,0 ocorre hidrólise de polissacarídeos, enquanto que em pH 6,0 a 6,2 verifica-se a precipitação de sais. Durante a autoclavagem e estocagem do meio antes da inoculação do explante e período de incubação, ocorrem decréscimos no pH (PASQUAL, 2001a).

3 - ENRAIZAMENTO DE RAMOS DE MAMOEIRO

3.1 - Enraizamento e aclimatização

O enraizamento é uma etapa que pode ser realizada *in vitro* ou *ex vitro*. No primeiro sistema, as raízes são regeneradas em condições assépticas e as plantas transplantadas para o substrato. A opção por um dos sistemas depende da qualidade da parte aérea obtida na multiplicação, da espécie, do genótipo e da disponibilidade de infra-estrutura (casa de vegetação). Uma alternativa para o enraizamento é a indução *in vitro* e a regeneração *ex vitro* antes do transplante das partes aéreas para o substrato antes de as raízes aparecerem (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

George & Sherrington (1984) e Schmildt (1997) relataram que o enraizamento *in vitro* de ramos de mamoeiro é difícil, porque na maioria das vezes há limitações para se alcançar índices de enraizamento satisfatório e as raízes formadas podem ser grandes e desproporcionais ao tamanho dos ramos. Além disso, elas, algumas vezes, apresentam geotropismo negativo e podem apresentar desconexão com o sistema vascular dos ramos, resultando, com isso, alta mortalidade de plantas durante o processo de aclimatização.

Em substratos porosos, a planta produz maior número de raízes secundárias, possibilitando maior suprimento de água e nutrientes para a planta. Para a micropropagação comercial, o sistema deve possibilitar altas taxas de proliferação, enraizamento, aclimatização, sobrevivência e crescimento inicial das mudas em casa de vegetação (MACIEL et al., 2002). Schmildt et al. (1997) obtiveram melhor enraizamento quando, em seguida à indução, os ramos foram transferidos diretamente para vermiculita em condições *ex vitro* utilizando uma câmara úmida para reduzir o estresse das plantas pela mudança de condição *in vitro* para *ex vitro*. Zaidan (2002) evidenciou a necessidade em suprimir a fase de enraizamento no laboratório, para redução dos custos de formação das mudas, embora não tenha tido resultados satisfatórios com o enraizamento *ex vitro* em seu trabalho com mamoeiro.

O enraizamento *ex vitro* ou *in vivo* de brotações micropropagadas é uma técnica que vem ganhando espaço, pelas vantagens que proporciona. Estima-se que a mão-de-obra envolvida em enraizar brotações individuais *in vitro* faz com que

esses estágios de micropropagação respondam por 35 a 75% do custo total de plantas propagadas por cultura de tecidos, dependendo da espécie (PASQUAL, 2001b).

3.2 - Fatores que afetam a rizogênese

3.2.1 - Reguladores de crescimento

A rizogênese ocorre de uma a três semanas após a indução com a utilização da auxina e pode ser dividida em indução, iniciação e alongamento de raízes (TAIZ & ZEIGER, 2004). As duas primeiras fases (às vezes consideradas uma só) respondem ou dependem da auxina, o crescimento das raízes é inibido pela sua presença. A dificuldade do sistema de micropropagação está em determinar uma condição *in vitro* na qual todas essas fases possam ocorrer normalmente e, de preferência, sem demandar manipulação adicional de uma fase para outra (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

Para induzir a formação de raízes adventícias, a citocinina é geralmente omitida (SANTOS-SEREJO et al., 2006). Todavia, Teo & Chan (1994) observaram ser necessária à adição da citocinina BAP para o sucesso do enraizamento do mamoeiro. A auxina adicionada ao meio de cultura é, geralmente, indispensável para o enraizamento. As partes aéreas provenientes da multiplicação necessitam de auxina exógena para estimular a formação e desenvolvimento de raízes. O tipo de auxina e a concentração utilizada influenciam a resposta à rizogênese (SANTOS-SEREJO et al., 2006).

Existem várias substâncias sintéticas que têm atividades semelhantes à auxina endógena como, por exemplo: ácido indolacético (IAA), ácido naftalenoacético (NAA), ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) e ácido indolbutírico (IBA). Este último, devido à sua capacidade de promover a formação de primórdios radiculares, tem sido usado para provocar e acelerar o enraizamento de estacas na propagação vegetativa de numerosas espécies vegetais.

Para o enraizamento de diversas espécies vegetais a auxina pode ser misturada com um material inerte, em forma de pó, ou pode-se submergir a base das estacas por poucos segundos em solução alcoólica concentrada ou ainda, em solução aquosa diluída do regulador de crescimento (CASTRO & VIEIRA, 2001).

Contudo, quando a concentração de auxina no meio de enraizamento é excessiva, ocorre a formação de calo na base do explante, comprometendo a rizogênese e o crescimento da parte aérea (SANTOS-SEREJO et al., 2006).

Em mamoeiros dióicos de polinização aberta, Zaidan (2002) obteve cerca de 90% de enraizamento, em um curto período entre 10 e 18 dias, com uso de 1 mg L⁻¹ IBA em meio MS modificado com a metade da concentração dos macronutrientes e com a concentração total dos micronutrientes e vitaminas. Melhor enraizamento o autor obteve de brotos alongados (5-10 mm) com 3 a 5 folhas. Também observou que brotos com folhas velhas quase sempre não enraizavam. Considerou como enraizamento ótimo, a presença de pelo menos 4 raízes com 1 cm de comprimento por planta, uma vez que brotos com raízes muito curtas ou com menor número de raízes não se desenvolveram bem e por fim deterioraram-se.

Schildt (1994), trabalhando com o cultivar “Tainung 01”, não observou a necessidade do emprego de meios seqüenciais: para a indução e para o enraizamento. Todavia, ficou evidente a necessidade de exposição dos ramos à auxina, por um período mínimo de cinco dias. O cultivo de ramos *ex vitro* após indução *in vitro*, permitiu obter 50% de mudas enraizadas e aclimatizadas.

3.2.2 - Luz

Embora a fotossíntese forneça os carboidratos necessários para a indução e o crescimento da raiz, a manutenção das brotações no escuro, durante a fase indutiva, é geralmente favorável para o enraizamento (PASQUAL et al., 2001). Segundo Assis & Teixeira (1998), a alta luminosidade propicia maior produção, transporte e acúmulo de auxinas e carboidratos, contudo, essas substâncias permanecem nos pontos de crescimento, estando pouco disponíveis na região de formação de raízes. Há também, nesse caso, maior produção de ABA (ácido abscísico) e substâncias fenólicas inibidoras do enraizamento.

Ensaios com mamoeiro têm demonstrado que a iniciação do enraizamento dos brotos é favorecida pela adição de carvão ativado (1 g L⁻¹) e pela exclusão da luz na parte inferior do tubo de ensaio com a aplicação de tinta preta na superfície externa inferior (ZAIDAN, 2002). O enraizamento dos ramos de mamoeiro “Tainung 01” não é influenciado pela exposição ou não ao escuro, em termos práticos aconselha-se cultivar os ramos por 30 dias sob luz (RABELLO et al., 2007).

3.2.3 - Oxigênio

O oxigênio é requerido para o enraizamento. Especialmente no caso do enraizamento *in vitro* em meio solidificado com ágar, a restrição da difusão irá causar uma pressão parcial do oxigênio. Neste caso pode haver limitação da disponibilidade desse elemento, a menos que se trabalhe com um meio líquido sob agitação ou material poroso molhado com líquido (vermiculita, areia, etc.). Em geral, o enraizamento em ágar não proporciona a formação de pêlos radiculares, o que pode desfavorecer a sobrevivência dos explantes durante a aclimatização (PASQUAL et al., 2001). Segundo Maciel et al. (2002), em substratos porosos, a planta produz maior número de raízes secundárias, possibilitando maior suprimento de água e nutrientes para elas.

3.2.4 - Nutrientes minerais

O fornecimento de nutrientes no enraizamento é quase sempre necessário. Embora haja uma redistribuição de nutrientes endógenos, transportados dos ramos para a base das estacas, o transporte de N, P, K, Mg, Ca e B no floema não é muito eficiente, sobretudo tratando-se de Ca e B (ASSIS & TEIXEIRA, 1998). Alguns desses nutrientes com resposta favorável ao enraizamento são citados a seguir.

a) Boro - Entre os nutrientes minerais o boro exerce funções importantes relacionadas à estrutura da parede celular e com as substâncias pécticas associadas a ela, especialmente a lamela média (EPSTEIN & BLOOM, 2006). De acordo com Assis & Teixeira (1998), o boro tem sido muitas vezes considerado mais importante no crescimento de raízes do que no enraizamento, mas em algumas espécies, reage sinergicamente com as auxinas, aumentando a porcentagem de enraizamento, o número de raízes por estaca e o comprimento de raízes.

b) Zinco - O zinco pode favorecer o aumento de níveis endógenos de AIA (ácido indolacético) por meio de seu efeito no aumento da produção de triptofano (ASSIS & TEIXEIRA, 1998). Pascholati (1995) cita que a principal auxina encontrada nos vegetais é o AIA, que é sintetizado em folhas e brotações jovens, a partir do aminoácido triptofano e translocado, rapidamente, em direção às raízes, para os tecidos mais velhos.

c) Cálcio - O cálcio é essencial para a integridade da membrana plasmática das células vegetais, especificamente para a seletividade do transporte de íons que elas realizam, além de interligar as cadeias pécticas, como o boro, contribuindo, conseqüentemente, para a sua estabilidade e afetar as propriedades mecânicas do gel péctico (EPSTEIN & BLOOM, 2006).

3.2.5 - Substratos

A composição do substrato pode ser muito variável, mas deve apresentar como principais características: baixa densidade, boa retenção de umidade e boa aeração. Para tanto, podem ser feitas misturas de diferentes ingredientes, tais como: vermiculita, turfa, esterco, casca de arroz carbonizada, pó de fibra de coco e compostos orgânicos diversos. Há também disponibilidade de substratos comerciais que podem ser usados com resultados satisfatórios (SOUSA et al., 2006b).

Existe grande interesse em aliar-se a vantagem operacional dos sistemas de produção de mudas em “plugs”, ou seja, substrato na forma de pequenos sólidos cilíndricos ou cúbicos, onde as microestacas são introduzidas. Estes sólidos, constituídos de materiais biodegradáveis, são embebidos em soluções nutritivas. Dessa maneira, a planta é aclimatada e transplantada no lugar definitivo sem qualquer injúria no sistema radicular, porém, o enraizamento nesse sistema varia muito com a espécie, desde o fácil enraizamento e crescimento radicular até a inibição completa (GRATTAPAGLIA & MACHADO 1998). Para substratos preparados pelo próprio agricultor, Sousa et al. (2006b) recomendam o uso de temperaturas elevadas. Atualmente, já existe tecnologia disponível para tratamento do substrato via aquecimento solar, conhecida como solarização, de fácil acesso e custo viável.

Outra possibilidade na aclimação de plantas oriundas de cultura de tecidos é utilização de micorrizas em substratos. A micorriza constitui-se numa simbiose praticamente universal, entre fungos micorrizícos arbusculares (FMAs) e espécies vegetais, tanto pelo grande número de plantas susceptíveis à micorrização como pela ocorrência generalizada na maioria dos habitats. Porém, vários fatores afetam o resultado da associação entre FMAs e plantas, dentre os mais significativos estão o tipo de fertilidade do substrato, a intensidade luminosa, a umidade e a aeração (SOUSA et al., 2006b).

4 - ACLIMATIZAÇÃO

Por ser uma técnica que para muitas espécies ainda se encontra em estudo, há necessidade de se definir um protocolo adequado para cada situação (PASQUAL et al., 2001).

Na busca da otimização do processo de micropropagação, a eliminação da etapa de enraizamento *in vitro* é desejável do ponto de vista econômico, pois representa uma considerável redução de custos de mão-de-obra e infra-estrutura, já que uma repicagem é eliminada levando a economia de espaço na sala de crescimento, energia elétrica e meio de cultura. Em termos de qualidade, na regeneração de raízes produzidas diretamente no substrato, é formado um sistema radicular mais completo e funcional, com maior número de raízes secundárias, sem a formação de calo que dificultaria a conexão do sistema vascular entre a raiz e o caule. Além disso, desse modo, evita-se a manipulação de plantas de raiz nua, ou poda de raízes, práticas que muitas vezes resultam em má qualidade do transplante e até na morte das plantas (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

No estágio de aclimatização, as plântulas sofrem uma mudança drástica quando são removidas dos frascos onde a luz e as trocas gasosas são limitadas e existe grande disponibilidade de açúcar. Essa passagem faz com que passem de heterotróficas para autotróficas, com grande gasto de energia (COSTA, 1998). Além disso, a planta passa de uma condição de disponibilidade de nutrientes e de ambiente asséptico para a necessidade de desenvolver a capacidade de absorção de nutrientes, além de estar sujeita ao ataque de microorganismos saprófitos e, eventualmente, patogênicos (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

Existem diferenças marcantes entre as ultra-estruturas de plantas obtidas de forma convencional e aquelas micropropagadas, como a redução do tecido paliádico e quantidade de clorofila, por exemplo. Devido às condições artificiais impostas no cultivo *in vitro*, as plantas, neste sistema, apresentam um aspecto translúcido, fenômeno conhecido como hiperidricidade ou vitrificação. Outra característica das plantas micropropagadas é o de apresentar um tecido de sustentação frágil, um sistema vascular pouco desenvolvido e células com paredes delgadas e ricas em espaços intercelulares. As folhas são tenras e delgadas, com reduzidas quantidades de cera e fotossinteticamente inativas (SOUSA et al., 2006b). O número de estômatos é reduzido, além de apresentarem mau funcionamento de

abertura e fechamento, assim como raízes pouco vascularizadas, comprometendo a atividade de absorção de água e nutrientes. O conjunto dessas características dificulta a pronta adaptação das plantas oriundas de cultura de tecidos às condições naturais, já que leva a uma transpiração excessiva, que pode resultar no dessecamento e murchamento das folhas, levando a planta à morte (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

A aclimatização pode ser considerada a fase final da micropropagação e sua importância é tal que pode significar a limitação de todo o processo de multiplicação *in vitro* de plantas. Numa escala comercial, o alto custo e o tempo que a planta leva para se adaptar à nova condição, podem tornar a técnica da micropropagação inviável. A adaptação das plantas, produzidas *in vitro*, às novas condições *ex vitro* deve ser gradual e cercada de cuidados especiais, de maneira a reduzir os estresses que podem culminar com a morte da planta (SOUSA et al., 2006b).

Algumas técnicas podem ser utilizadas visando a tornar as brotações mais resistentes ao estresse ambiental, de modo que possam enraizar sem problemas (Pasqual et al., 2001). Dentre estas técnicas, podemos citar:

- a) - endurecimento *in vitro*, que é conseguido com a redução do potencial hídrico do meio e redução da umidade no frasco de cultura. Método utilizado por Schmildt (1994) que, trabalhando com enraizamento *in vitro* de microestacas de mamoeiro, teve o cuidado de abrir as tampas dos tubos de ensaio, três dias antes do transplante para casa de vegetação, visando à pré-aclimatização das mudas;
- b) - aumento da intensidade luminosa durante o crescimento e o endurecimento na sala de crescimento ou, segundo Sousa et al. (2006b), a utilização de sistemas de iluminação natural;
- c) - uso de reguladores de crescimento;
- d) - redução ou eliminação da sacarose para estimular o desenvolvimento autotrófico.

Finalmente, vale destacar que as pesquisas referentes ao comportamento das plantas *in vitro*, assim como um melhor conhecimento da fotossíntese, relações hídricas, atividades enzimáticas e nutrição mineral, têm auxiliado bastante nos procedimentos de aclimatização. É importante desenvolver mecanismos de pré-aclimatização da planta ainda sob condições *in vitro*, por meio de controle dos principais fatores que interferem na sobrevivência das plantas (SOUSA et al., 2006b).

5 - PERSPECTIVAS FUTURAS

No tocante à micropropagação do mamoeiro, existe a possibilidade do emprego dos biorreatores que são equipamentos utilizados para micropropagação clonal e massal de plantas, cujo objetivo é a imersão temporária ou permanente de cultura de células ou tecidos vegetais ao meio de cultivo líquido. Eles têm o propósito fundamental de facilitar o trabalho rotineiro e melhorar as condições ambientais e assépticas para as culturas com produção em larga escala. Nos biorreatores de imersão temporária, as gemas a serem multiplicadas ficam expostas a ciclos de imersão, evitando a presença de dispositivos de agitação e arejamento.

Este biorreator basicamente constitui-se num sistema de engenharia simples e barata. Consta de um recipiente de vidro com capacidade de 500 a 1000 ml, cuja tampa apresenta dois furos, um para a entrada do ar e outro para saída, sendo que, em ambos os casos, esses orifícios estão providos de dutos de aço inox com filtro Millipore® (0,2 µm de poro) a fim de se evitar a contaminação interna. O ar é provido através de um micro compressor (aproximadamente 3 litros/ minuto), e é conduzido ao fundo do recipiente através de uma mangueira de silicone, de onde ele sai, através de um tubo poroso, formando bolhas que agitarão o meio líquido. Com exceção da borracha que liga o filtro de entrada ao compressor, todos os componentes do sistema são autoclaváveis (120°C por 20 minutos) (GUERRA & NODARI, 2006).

Outra técnica de grande aplicabilidade para a propagação massal de plantas hermafroditas de mamoeiro, diminuindo a importação de sementes híbridas que apresentam preço elevado no mercado internacional, é a embriogênese somática (ALMEIDA et al., 2001). Uma vez que os embriões somáticos são estruturalmente similares aos embriões zigóticos torna-se vantajoso combinar a eficiência e o baixo custo das sementes como fonte de propágulos com a produção clonal massal in vitro de embriões a partir de células somáticas (GUERRA et al., 1998). O alginato de sódio tem sido utilizado na produção de sementes sintéticas para o encapsulamento de embriões somáticos. Apresenta boas características para o encapsulamento por causa de suas propriedades geleificantes, do baixo custo, da facilidade de uso e da ausência de toxicidade (GUERRA et al., 1998).

A técnica de sementes sintéticas tem sido continuamente aprimorada de tal maneira que a partir de uma análise qualitativa e quantitativa dos componentes do

endosperma de uma semente, pode-se reconstituir e adicionar nutrientes inorgânicos e orgânicos, agentes protetores bem como microorganismos benéficos (micorrizas) ao hidrogel. Além disso, esse sistema é utilizado para a obtenção de plantas transgênicas e sementes sintéticas (GUERRA et al., 1998).

6 - REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, E. P. de; OLIVEIRA, R. P, de; DANTAS, J. L. Indução e desenvolvimento de calos e embriões somáticos em mamoeiro. **Scientia Agrícola**. v.58, n. 1, p. 51-54, jan. /mar. 2001.
- ALVES, F. de L. A cultura do mamão *Carica papaya* no mundo, no Brasil e no Estado do Espírito Santo. In MARTINS, D. dos S.; COSTA, A. de F. S. da. **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória: Incaper, 2003. Cap. 1, p. 13-34.
- ANDRADE, V. M. de M. O mamoeiro: Taxonomia e morfologia. In. Simpósio Brasileiro sobre a Cultura do Mamoeiro: **Anais**. v.1, Jaboticabal: UNESP, 1980. p. 61-70.
- ANDREANI JUNIOR, R. **Caracterização do sexo do mamoeiro (*Carica papaya* L.) através de marcadores moleculares e de microscopia eletrônica de varredura**. 1998. 65 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, UNESP, Jaboticabal, 1998.
- ARAUJO, A. G. F. de; YAMANISHI, O. K. Propagação vegetativa do mamoeiro via enxertia: influência do método de garfagem e do tipo e diâmetro do garfo. In MARTINS, D. dos S. (ed.). **Papaya Brasil: qualidade do mamão para o mercado interno**. Vitória: Incaper, 2003. p.321-327.
- ASSIS, T. F. de; TEIXEIRA, S. L. Enraizamento de plantas lenhosas. In TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformações genéticas das plantas**. Brasília: Embrapa, 1998. p.261-296.
- BOREM, A. Melhoramento de espécies assexuadamente propagadas. In **Melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, 2001, Cap. 30p.447-452.
- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1998. v. 1, p.87-131.
- CARRER, H. **Controle da morfogênese em mamão (*Carica papaya* L.) *in vitro***. 1988, 138 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia , Piracicaba: ESALQ, 1988.
- CARVALHO, J. M. F. C.; VIDAL, M. S. **Noções de cultivo de tecidos vegetais**. Campina Grande, EMBRAPA, n. 116, out., 2003.
- CASTRO, P. R. C.; VIEIRA, E. L. **Aplicações de reguladores de crescimento vegetais na agricultura tropical**. Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária, 2001.
- COSTA. M. A. P. de C.; SOUSA, A. da S.; ALMEIDA, W. A. B. de. Morfogênese in

vitro. In SOUSA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (ed.) **Introdução a micropropagação**. Cruz das Almas: EMBRAPA, 2006. Cap. 6, p. 115-130.

COSTA, A. de F. S. da; COSTA, A. N. da. Produção de mudas clonais de mamoeiro. In MARTINS, D. dos S.(ed.). **Papaya Brasil: qualidade do mamão para o mercado interno**. Vitória: Incaper, 2003. p. 317-320.

COSTA, A. de F. S. da; PACOVA, B. E. V. Caracterização de cultivares, estratégias e perspectivas do melhoramento genético do mamoeiro. In MARTINS, D. dos S.; COSTA, A. de F. S. da. **A cultura do mamoeiro: Tecnologias de produção**. Vitória: Incaper, 2003. p. 59-102.

COSTA, A. M. M. Fisiologia da aclimação. In TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. **Micropropagação de plantas ornamentais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1998. p. 63-67.

COUTO, F.A.D.A. Produção de mudas de mamoeiro e maracujazeiro. **Informe Agropecuário**, v.9, n.102, Belo Horizonte: EPAMIG, 1983. p.15-18.

EMBRAPA. Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. **Perguntas e respostas. Mamão**. 2005. Disponível em: <www.embrapamandiocaefruticulturatropical.com.br>. Acesso em: 12 de setembro de 2006.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2 ed., Londrina: Editora Planta, 2006.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations: essential documents, statistics, maps and multimedia resources**. Disponível em: <www.fao.org/ - 18k -> Acesso em: 15 dezembro 2007.

GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. **Plant propagation by tissue culture: handbook and directory of commercial laboratories**. Eversley: Exegetics, 1984.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformações genéticas das plantas**. Brasília: Embrapa, 1998. p. 183-260.

GOTO, R.; KOBORI, R. F.; SANTOS, H. S.; CANIZARES, K. A. L. Metodologia de enxertia em solanáceas. In GOTO, R.; SANTOS, H. S.; CANIZARES, K. A. L. **Enxertia em hortaliças**. São Paulo: UNESPE, 2003. Cap. 10, 57-67p.

GUERRA, M. P.; TORRES, A.C.; TEIXEIRA, J.B. 1999. Embriogênese Somática e Sementes Sintéticas. In: Torres, A. C.; Caldas, L.S.; Buso, J. A. (ed.). **Culturas de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1998. v.2., 533-568 p.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. **Apostila de biotecnologia**. CCA/UFSC – MP GUERRA & NODARI; Edição STEINMACHER (2006). 1.1 cultura de tecidos

desorganizados... Disponível em: <www.ufsm.br/petagonomia/apostilas/biotecnologia_ufsc.pdf> Acesso em: 12 de setembro de 2007.

IBGE. **A: \Sistema IBGE de Recuperação Automática** – SIDRA16.htm. Disponível em: <www.ibge.com.br>. Acesso em: 29 de janeiro de 2008.

JESUS JUNIOR, V. C. de; CECILIO, R. A.; VALADARES JUNIOR, R.; CARRARA, F.; MORAES, W. B.; ALVES, F. R.; NEVES, C. I. Aquecimento global e o potencial impacto na cultura e doenças do mamoeiro. In MARTINS, D. dos S.; COSTA, A. N. da; COSTA, A. de F. S. da. (ed.) . **Papaya Brasil: manejo, qualidade e mercado do mamão**. Vitória: Incaper, 2007. Cap. 5, p.83-100.

JUNGHANS, T. G.; SANTOS-SEREJO, J. A. dos. Obtenção e Manuseio de Explantes. In SOUSA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (ed.). **Introdução a micropropagação**. Cruz das Almas: EMBRAPA, 2006. Cap. 7, p. 99-114 .

LAERA, L. H.; CASTELLO, J. N. **Fruticultura prática**. Rio de Janeiro: Editora Tecnoprint S. A., 1986.

LIMA, D. J.; MORAES, W. da S. Controle de bactérias contaminantes em explantes de bananeira (Musa AAA cv. Caipira). **Pesquisa Agropecuária Tropical**. São Paulo:Unesp, v. 36, n. 3 , p.181-186,2006.

MACIEL, S. da C.; VOLTOLINI, J. A.; PEDROTTI, E. L. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização da porta-enxerto de macieira marubakaido micropropagado. **Revista brasileira de fruticultura**. Jaboticabal - SP, v. 24, n. 2, p. 289 – 292, ago. 2002.

MANICA, I. Cultivares e melhoramento. In MANICA, I.; MARTINS, D. dos S.; VENTURA, J. A. (ed.). **Mamão: Tecnologia de produção pós-colheita, exportação, mercados**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2006. p. 49-82.

MARIN, S. L. D.; GOMES, J. O. **Sexagem do mamoeiro e sua aplicação no desbaste de plantas**. Vitória: EMCAPA, 1985.

MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue culture. **Annual review of plant physiology**. v. 25, p. 135-166, 1974.

MURASHIGE, T.; TUCKER, D. P. H. Growth factor requirements of Citrus tissue culture. **International citrus symposium**, v. 3, p. 1155-1161, 1969.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. **A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures**. v. 15, Copenhagen: Physiologia plantarum, 1962. p. 473-497.

OLIVEIRA JUNIOR, M. E. de. Importância econômica. In MANICA, I.; MARTINS, D. dos S.; VENTURA, J. A. (ed.). **Mamão: Tecnologia de produção pós-colheita, exportação, mercados**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2006. p. 9-17.

ONO, E. O.; GRANA Jr., J. F.; RODRIGUES, J. V. Reguladores vegetais na quebra da dominância apical de mamoeiro (*Carica papaya* L.). In **Revista brasileira de fruticultura**. v. 26, n. 2. Jaboticabal: 2004.

PASCHOLATI, S. F. Fitopatógenos: Fitotoxinas e hormônios. In BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H. AMORIM, L. **Manual de fitopatologia**: Princípios e conceitos. v.1, 3 ed., São Paulo: Ceres, 1995. cap. 20, p. 365-392.

PASQUAL, M. **Meios de cultura**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001a.

PASQUAL, M. **Introdução: fundamentos básicos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001b.

PASQUAL, M.; CHAIFUN, N. N. J.; RAMOS, J. D. **Aplicações na propagação de plantas**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001.

PEREIRA, M. G. Melhoramento Genético do Mamoeiro (*Carica papaya* L.): Desenvolvimento e recomendação de híbridos. In FEITOSA, C. (ed.). **Seahortes**. I Semana Acadêmica de Horticultura do Espírito Santo: Palestras e Resumos dos trabalhos. n. 1, Alegre: Editora Link, 2003. 61-65 p.

PIZA, I. M. de T.; PINHO, R. S. **Protocolo de micropropagação da mandioca...** Série: capítulo 7 – técnicas e aplicações da cultura de tecidos em mandioca./18. Capítulo 8. 2002. Disponível em: <<http://www.aban.com.br/livros/cargil/volume>> Acesso em: 9 de junho de 2006.

RABELO, W. S.; SHMILDT, E. R.; AMARAL, J. A. T. do; SHMILDT, O. Enraizamento *in vitro* de ramos de mamoeiro “Tainung 01” cultivados sob luz e escuro/luz. In MARTINS, D. dos S.; COSTA, A. N. da; COSTA, A. de F. S. da. (ed.). **Papaya Brasil**: manejo, qualidade e mercado do mamão. Vitória: Incaper, 2007. Cap. 20, 301-304p.

ROMEIRO, R. da S. **Bactérias fitopatogênicas**. 2 ed., Viçosa: UFV, 2005.

RUGGIERO, C.; DURIGAN, J. F.; GOES, A. de; NATALE, W.; BENASSI, A. C., Panorama da cultura do mamão no Brasil e no mundo: situação atual e tendências, in MARTINS, D. dos S. (ed.), **Papaya Brasil**: qualidade do mamão para o mercado interno. Vitória: Incaper, 2003. p. 13-34.

SANTOS, S. C.; RUGGIERO, C.; SILVA, C. L. SOARES P.; LEMOS, E. G. M. A microsatellite library for *Carica papaya* L. cv. Sunrise solo. Jaboticabal: **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, ago. 2003.

SANTOS-SEREJO, J. A. dos; JUNGHANS, T. G.; SOARES, T. L.; SILVA, K. M. da. Meios nutritivos para micropropagação de plantas. In SOUSA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (ed.). **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: EMBRAPA, 2006. Cap. 7, 79-98p.

SCHMILDT, E. R. Considerações sobre a biotecnologia em mamoeiro (*Carica papaya*). In FEITOSA, C. (ed.). **Seahortes**. I semana acadêmica de horticultura

do Espírito Santo: Palestras e resumos dos trabalhos. n. 1, Alegre: Editora Link, 2003. Cap. 9, p. 55-59.

SCHMILDT, E. R.; TEIXEIRA, S. L.; CRUZ, C. D.; COUTO, F. A. D'A.; LANI, E. R. G. Enraizamento de ramos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) obtidos por cultivo *in vitro* de ápices caulinares. In **Revista Ceres**. v. 44, n. 253, Viçosa: UFV, 1997. 339-345p.

SCHMILDT, E. R. **Enraizamento “in vitro” e “ex vitro” de ramos de mamoeiro (*Carica papaya* L.)**. 1984, 84 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – programa de Pós Graduação em Fitotecnia, Viçosa: UFV, 1994.

SCHMILDT, O.; SCHMILDT, E. R.; AMARAL, J. A. T. do; MARTINS FILHO, S. Multiplicação de ramos de mamoeiro “Tainung 01” em diferentes níveis de sulfato de adenina. In MARTINS, D. dos S.; COSTA, A. N. da; COSTA, A. de F. S. da. **Papaya Brasil: manejo, qualidade e mercado do mamão**. Vitória: Incaper, 2007. Cap. 20, 290-292p.

SCHMILDT, O. **Multiplicação in vitro de mamoeiro “Tainung 01”**. 2006. 46 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Programa de Pós Graduação em produção Vegetal, UFES, Alegre, 2006.

SOARES FILHO, W. dos S. S.; DANTAS, J. L. L. Melhoramento Genético de Fruteiras na Embrapa Mandioca e Fruticultura. In FEITOSA, C. (ed.). **Seahortes**. I Semana Acadêmica de Horticultura do Espírito Santo: Palestras e Resumos dos trabalhos. n. 1, Alegre: Editora Link, 2003. 61-65 p.

SOUSA, F. V. D. S.; JUNGHANS, T. G.; SOUSA, A. da S.; SANTOS-SEREJO, J. A dos; COSTA, M. A. P. de C. Micropropagação. In SOUSA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (ed.). **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: EMBRAPA, . Cap. 7, p. 38-52, 2006a.

SOUSA, A. da S.; COSTA, M. A. P. de; SILVA NETO, H. P. da. Aclimatização. In SOUSA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (ed.). **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: EMBRAPA, Cap. 7, p. 131-140, 2006b.

STOREY, W. B. The botany and sex relations of the papaya. In STOREY, W. B.; JONES, W. V. (ed.). **Papaya production in the Hawaiian Islands**. Hawaii: Agricultural experiment station, n. 87, Cap. 1, p. 5-22, 1941.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TEO, C. K. H.; CHAN, L. K. The effects of agar content, nutrient concentration, genotype and light intensity on thr in vitro rooting of papaya microcuttings. **Hort. Science**, v. 69, p. 73-267, 1994.

VIANNA, R. G. **Micropropagação do mamoeiro (*Carica papaya* L.) utilizando ápices caulinares de plantas adultas**. 1996, 66 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Programa de Pós Graduação em Fitotecnia, UFV, Viçosa, 1996.

YU, T.-A.; YEH, S.-D.; YANG J.-S. Effects of carbenicillin and cefotaxime on callus growth and somatic embryogenesis from adventitious roots of papaya. **Plant Cell Tissue Organ Culture**. v. 61, p. 29-35, 2000.

ZAIDAN, H. A. **Micropropagação e uso de marcadores moleculares na determinação do sexo do mamoeiro**. 2002, 154 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós Graduação em Agronomia, UNESP Jaboticabal, 2002.

7 - CAPÍTULO 1

DESINFESTAÇÃO DE EXPLANTES DE MAMOEIRO “TAINUNG 01”

Resumo - O estudo teve por objetivo determinar estratégias de controle da contaminação microbiana no processo de multiplicação *in vitro* de mamoeiro “Tainung 01”, de modo a permitir a sua eficiente micropropagação. A pesquisa descrita foi realizada no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, utilizou-se em sua execução rifampicina, diferentes concentrações e tempos de exposição ao hipoclorito de sódio para o estabelecimento de explantes de plantas adultas e juvenis de mamoeiro. Os tratamentos foram montados de forma seqüencial até que se alcançasse percentual satisfatório de explantes sobreviventes sem sintomas de fitotoxidez e contaminantes visíveis. O tratamento em que se utilizou álcool 70% por 60 segundos, hipoclorito de sódio 1% por 20 minutos, lavados três vezes com água destilada altoclavada, rifampicina 300 mg L⁻¹ em agitação durante 24 horas, hipoclorito de sódio 0,6% por 15 minutos seguido de três lavagens com água destilada altoclavada (T5), proporcionou um percentual de 92,5 % de sobrevivência, índice satisfatório para a micropropagação comercial. Os explantes foram três vezes subcultivados em meio MS com 0,45 mg L⁻¹ de BAP e 0,93 mg L⁻¹ de cinetina. Utilizou-se teste qui-quadrado para testar a proporção de 16/1, ou seja, 16 brotos produzidos por explante. Com relação à porcentagem de sobrevivência, verificou-se que o tratamento, que utilizou plantas adultas (T5), é o que apresenta o melhor resultado.

Palavras-chave: *Carica papaya*, contaminação *in vitro*, micropropagação.

DISINFECTION OF EXPLANTS OF “TAINUNG 01” TREE

Abstract - The present study had for objective to determine strategies of control of the microbial contamination in the process of multiplication in “Tainung 01” papaya tree *in vitro*, in way to allow an efficient micropropagation. The described researches were accomplished in the Centro de Ciências Agrárias of the Universidade Federal do Espírito Santo being used rifampicina and different concentrations and times of exhibition to the hypochlorite of sodium for the establishment of explantes of adult and juvenile plants of papaya tree. The treatments were mounted in a sequential way until that the satisfactory percent of surviving explantes without poisonous symptoms and visible pollutants were reached. The treatment with alcohol 70% was used by 60 seconds, hypochlorite of sodium for 20 minutes, washed three times with water distilled sterilized in the autoclave, rifampicina 300 mg L⁻¹ in agitation for 24 hours, hypochlorite of sodium 0,6% for 15 minutes following by three washes with water distilled sterilized in the autoclave, obtained a percent of 92,5% of survival, satisfactory index for the commercial micropropagation. The explantes were three times subcultivations in MS medium with 0,45 mg L⁻¹ of BAP and 0,93 mg kinetin L⁻¹. It was used tests qui-square to test the proportion of 16 sprouts produced by explante. Regarding survival percentage, it was verified that the treatment, that used adult plants (T5) is what presents the best result.

Key words: *Carica papaya*, disinfects of explants.

INTRODUÇÃO

A contaminação bacteriana limita o sucesso da micropropagação do mamoeiro. Isso porque a presença de altos níveis de nutrientes minerais, açúcares e outros nutrientes orgânicos, além da alta umidade relativa do ambiente de cultura favorecem a ação de microorganismos (VIANNA, 1996; GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998; ZAIDAN, 2002). Segundo Romeiro (2005), toda planta, potencialmente, abriga bactérias endofíticas mesmo em tecidos saudáveis, alguns desses endofitas são agentes de biocontrole de enfermidades ou promotores de crescimento, ainda que a maioria deles não exiba qualquer efeito detectável e alguns sejam nocivos.

O isolamento de bactérias endofíticas de plantas de mandioca, com capacidade para fixar N_2 atmosférico *in vitro*, demonstra a presença de isolados bacterianos com potencial para aplicação biotecnológica, como promotores de crescimento da planta (TEIXEIRA et al., 2005). Silva et al. (2006) testaram 217 bactérias e 17 fungos endofíticos de cafeeiro em discos de folhas de mudas de cafeeiro "Mundo Novo". Para o controle de *Hemileia vastatrix*, os autores obtiveram redução da severidade da ferrugem em torno de 85% com isolados de bactérias endofíticas 3F e 119G. Mas, na micropropagação de plantas, as contaminações bacterianas são realmente mais drásticas e trazem consequências como perda de tempo e de recursos financeiros ou genéticos, pela eliminação de frascos contaminados, bem como riscos de distribuição de plantas contaminadas (SOUSA et al., 2006). Em conformidade com Agnihotri (2004), a maior dificuldade da micropropagação de plantas adultas de mamoeiro oriundas do campo é a alta incidência de contaminação por bactérias endofíticas.

Os tratamentos de desinfestação devem ser feitos para eliminar os microrganismos contaminantes, notadamente bactérias e fungos e, também, ácaros e tripes. Porém, as últimas são mais fáceis de controlar. Estudos preliminares revelam que os descontaminantes como o álcool e o hipoclorito de sódio agem superficialmente, não controlando satisfatoriamente a contaminação endofítica. Vianna (1996); Grattapaglia & Machado (1998) sugerem a adição de componentes como o detergente Tween e o pré-tratamento com álcool para facilitar a penetração de hipoclorito de sódio em pequenas cavidades da superfície das plantas. Os explantes devem ser posteriormente enxaguados por três vezes ou mais com água estéril para evitar que o hipoclorito de sódio cause danos aos tecidos.

O antibiótico rifampicina pertence ao grupo das rifamidas e é indicado no controle de bactérias gram-positivas e gram-negativas, sendo considerado eficiente no controle e eliminação da contaminação endofítica em cultura de tecidos de várias plantas (ZAIDAN, 2002). Vianna (1996) utilizou o antibiótico rifampicina, em meio de cultura ou em imersão por 24 horas sob agitação e obteve 70% de descontaminação para ambos os tratamentos em explantes de plantas adultas de mamoeiro, concluindo que a rifampicina (50 mg L^{-1}), eficiente no controle da contaminação bacteriana de explantes de mamoeiro cv "Tainung 01". Lima & Moraes (2006) constataram sintomas de toxidez em explantes de bananeiras Musa AAA cv caipira, devido à utilização do antibiótico rifampicina no meio de cultura. Porém, não foram constatados os mesmos efeitos, quando os explantes permaneceram em agitação na solução por 24 horas e inoculados em meio isento do antibiótico.

O presente estudo teve por objetivo determinar estratégias de controle da contaminação microbiana no processo de multiplicação *in vitro* de mamoeiro "Tainung 01", com a utilização de rifampicina e diferentes concentrações e tempos de exposição ao hipoclorito de sódio na desinfestação de explantes de plantas juvenis e adultas.

MATERIAL E MÉTODOS

As pesquisas foram realizadas no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo – CCA-UFES. Sementes de mamoeiro “Tainung 01” foram plantadas no dia 19 de março de 2006, em sacolas de polietileno preto de 21 X 13,5 cm. O substrato utilizado foi composto por esterco de boi curtido, areia e terra de subsolo, na proporção 1: 1: 3. Foram plantadas três sementes por sacola que germinaram entre 15 a 21 dias. Aos 30 dias foi feito um desbaste, deixando apenas uma planta por sacola. Cerca de quatro meses depois, 30 plantas de mamoeiro foram transferidas para 10 vasos de 18 litros e 20 plantas para vasos de 25 litros de capacidade que continham, anteriormente, plantas ornamentais, sendo essas, transferidas para o solo de modo a aproveitar os recipientes.

Foram feitas pulverizações quinzenais alternadas com Kumulus[®] (fungicida) e Vertimec[®] (acaricida) e aplicação de nutrientes via foliar (Ouro Verde) até o florescimento das plantas, que ocorreu entre nove e dez meses, quando foi possível a sexagem. Foram selecionadas 10 plantas hermafroditas, que foram seccionadas nos ápices, a 70 cm do colo e pulverizadas com solução contendo 500 mg L⁻¹ de BAP + 100 mg L⁻¹ de GA₃, conforme recomendado por Costa & Costa (2003) para estimular o desenvolvimento de brotações laterais, sendo três aplicações em intervalos semanais. Aos 10 meses, já foi possível identificar o sexo da maioria das plantas, sendo selecionadas 10 plantas hermafroditas.

No dia 25 de setembro de 2006, foi feito um novo semeio de mamoeiro “Tainung 01” em 300 sacolas de 1 litro de capacidade, mantidas em casa de vegetação instalada na área da Escola Agrotécnica Federal de Alegre. O substrato utilizado foi terra de subsolo e esterco bovino bem curtido na proporção 3 terra: 1 esterco. Aos três meses após o plantio, as mudas foram transportadas para a casa de vegetação do CCA-UFES, permanecendo próximas às plantas adultas e recebendo os mesmos tratamentos fitossanitários.

As soluções estoques, para os trabalhos com a micropropagação do mamoeiro, foram preparadas em concentrações 50 vezes maiores, pois segundo Santos-Serejo et al. (2006), as soluções nessas concentrações parecem ser mais estáveis.

A primeira inoculação de explantes de plantas juvenis de mamoeiro foi feita no dia 15 de dezembro de 2006, quando as plantas tinham quatro meses de idade.

Outras inoculações foram feitas em intervalos de sete dias, quando já era possível observar contaminações por bactérias. As plantas juvenis foram utilizadas para estudos preliminares. Os tratamentos são relatados a seguir:

T1 – 50 explantes de ápices caulinares de plantas juvenis, submetidos aos seguintes processos de desinfestação: álcool 70% durante 60 segundos e hipoclorito de sódio a 1% durante 20 minutos, sendo em seguida lavados três vezes com água destilada autoclavada.

T2 – 50 explantes foram imersos em solução de álcool 70% durante 60 segundos, hipoclorito de sódio a 1% durante 20 minutos, seguido de três lavagens em água destilada autoclavada. Em seguida, os explantes foram imersos em rifampicina (300 mg L^{-1}) com agitação durante 24 horas.

T3 – 40 explantes de ápices de brotações laterais de plantas juvenis submetidas aos seguintes processos: álcool 70% durante 60 segundos, hipoclorito de sódio 1% durante 20 minutos, logo após, três lavagens em água destilada autoclavada. Depois, os explantes foram imersos em rifampicina (300 mg L^{-1}) com agitação durante 24 horas. Após esses tratamentos, os explantes foram imersos em hipoclorito de sódio a 0,6% durante 20 minutos, seguido de três lavagens em água destilada autoclavada.

T4 – 15 explantes de ápices de brotações laterais de plantas juvenis, com os seguintes procedimentos: álcool 70% durante 60 segundos, hipoclorito de sódio 1% durante 20 minutos, três lavagens em água destilada autoclavada, rifampicina (300 mg L^{-1}) durante 24 horas, hipoclorito de sódio a 0,6% durante 10 minutos, e três lavagens em água destilada autoclavada.

T5 – 40 explantes de brotações laterais de plantas adultas, de sexo hermafrodita mantidas até a fase de florescimento em vasos de 25 L de capacidade, as quais foram decapitadas e pulverizadas com solução contendo 500 mg L^{-1} de BAP + 100 mg L^{-1} de GA_3 , conforme o recomendado por Costa e Costa (2003). Os explantes foram submetidos aos seguintes tratamentos: álcool 70% durante 60 segundos, hipoclorito de sódio 1% durante 20 minutos, três lavagens em água destilada autoclavada, rifampicina (300 mg L^{-1}) durante 24 horas, hipoclorito de sódio a 0,6% durante 15 minutos, três lavagens em água destilada autoclavada.

Os tratamentos foram montados de forma seqüencial até que se alcançasse percentual satisfatório de explantes sobreviventes sem sintomas de fitotoxidez e contaminantes visíveis, em intervalos de sete dias, quando já era possível observar

a presença de contaminantes endógenos. Os dados foram avaliados utilizando estatística simples onde foram apresentados o número de explantes contaminados, as médias e percentagens de brotos obtidos por explante sobrevivente.

Os explantes foram reduzidos de 0,3 a 0,6 cm e inoculados em meio MS acrescido de 5,38 mg L⁻¹ de cinetina e de 0,093 mg L⁻¹ de ANA, conforme Schmildt et al. (2007). Após 30 dias foi avaliado o número de explantes não contaminados.

Após três subcultivos de vinte dias cada, em meio MS contendo: 30 g L⁻¹ de sacarose, 7 g L⁻¹ de ágar, 0,45 mg L⁻¹ de BAP e 0,93 mg L⁻¹ de cinetina, foram contados os brotos resultantes de cada tratamento. As plantas foram repicadas, com a retirada das folhas mais velhas e do calo da base. Foram reduzidas a pequenas estacas, originando de 3 a 18 ramos que foram inoculados em frascos em número de 3 a 5, conforme o tamanho dos ramos, contados e medidos em ambiente asséptico.

Os dados foram analisados utilizando o teste qui-quadrado. Segundo Ledo & Faria (2006), o qui-quadrado é o teste não paramétrico mais conhecido e utilizado em cultura de tecidos vegetais. Foi realizado um teste de qui-quadrado para verificar a relação existente entre o tratamento aplicado e o resultado obtido, para várias proporções e outro para testar a proporção de 16/1, ou seja, 16 brotos produzidos por explante ao final de três subcultivos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro tratamento, que utilizou apenas álcool 70% durante 60 segundos e hipoclorito de sódio 1% por 20 minutos, as perdas foram totais. Notaram-se altos índices de contaminação, tanto por fungos quanto por bactérias. Três dias após a inoculação, já foi possível observar o desenvolvimento de microorganismos no meio de cultura e, ao final de trinta dias, não havia sobrevivido nenhum explante.

Quando se adicionou rifampicina 300 mg L⁻¹ (T2) ao tratamento anterior ocorreu uma diminuição na taxa de contaminação. Entretanto, esta ainda foi alta, confirmando a afirmação de Vianna (1996) e de Grattapaglia & Machado (1998) de que o antibiótico rifampicina tem um efeito bacteriostático e não, propriamente, bactericida. Com relação à proporção de 16/1, verifica-se que a contaminação bacteriana prejudica a taxa de multiplicação de plantas juvenis de mamoeiro "Tainung 01". Esses dados corroboram com a afirmação de Leifert et al. (1984) de que o efeito deletério da presença de bactérias, contaminantes em cultura de tecidos, poderia alcançar 15% de redução na taxa de multiplicação até a morte das plantas. Foram, assim, necessários novos tratamentos, com uma nova imersão em hipoclorito de sódio, só que desta vez em uma concentração mais baixa (0,6%) com variações no tempo até que se alcançasse um resultado satisfatório.

Quando se adicionou ao primeiro tratamento a rifampicina 300 mg L⁻¹ em agitação por 24 horas e em seguida uma nova imersão em hipoclorito de sódio 0,6% por 20 minutos (T3), não houve contaminação nenhuma. Porém, ocorreram altos índices de perdas devido à fitotoxidez, o que indicou que o hipoclorito de sódio é eficiente na desinfestação. Todavia, a permanência dos explantes por tempo prolongado na solução resulta na morte de explantes, foi, assim, necessário a redução do tempo de exposição. Os explantes mortos apresentavam aspecto esbranquiçado, provavelmente devido à desintegração das moléculas de clorofila.

No quarto tratamento, o tempo de exposição à segunda imersão em hipoclorito de sódio (0,6%) foi reduzido para 10 minutos. Nesse tratamento não foram observados sintomas de fitotoxidez, mas algumas plantas apresentaram contaminação com bactérias endofíticas. Embora a média geral desse tratamento tenha sido de 73,3% de explantes sem sintomas de contaminação visíveis, os resultados são, ainda, insatisfatórios para a micropropagação comercial.

Os resultados dos tratamentos em que foram utilizados explantes de plantas juvenis indicam que o tempo de exposição adequado para desinfestação com hipoclorito de sódio a 0,6% deve estar entre 10 e 20 minutos (Tabela 1). Considerando os resultados obtidos nos testes com plantas juvenis, utilizou-se 15 minutos (T5) para a inoculação de plantas adultas de mamoeiro do grupo Formosa “Tainung 01”, obtendo-se assim um melhor resultado, 92,5% de sobrevivência de explantes. Esses dados foram superiores aos obtidos por Vianna (1996).

No segundo tratamento foi observado o reaparecimento de contaminação endofítica após o segundo subcultivo. Embora a contaminação não resultasse em morte das plantas, ocorreu sensível redução na taxa de crescimento e multiplicação dos explantes. Resultados semelhantes foram notados por Lima & Moraes (2006) em explantes de bananeira. Nos outros tratamentos, não se observou reaparecimento de contaminação.

O teste de qui-quadrado para várias proporções mostrou que há relação entre o tratamento aplicado e a resposta obtida, com um nível de 1% de probabilidade, indicando que houve redução na taxa de multiplicação do Tratamento 2. Com relação à porcentagem de sobrevivência, verifica-se que o tratamento T5 é superior e com relação à proporção 16/1, verifica-se que o tratamento T5 é não significativo ao nível de 5% de probabilidade, ou seja, obedece a proporção de 16/1. Portanto, com base nesses testes, o tratamento T5 realmente é o melhor.

Tabela 1 – Avaliação das técnicas de desinfestação dos explantes de mamoeiro Tainung 01 aos 30 dias após a inoculação em meio MS com 5,35 mg L⁻¹ de cinetina e 0,093 mg L⁻¹ de ANA e após três subcultivos em meio MS com 0,93 mg L⁻¹ de cinetina e 0,45 mg L⁻¹ de BAP.

Tratamentos	Explantes Iniciais (nº)	Cont./ fungos (nº)	Cont./ bactérias (nº)	Fitotox. (nº)	Plantas sadias	Sobrev. (%) ^{1/} 30 dias	Média de brotos obtidos / explante Após 3 subcultivos	N. de brotos > que 0,2 cm ^{2/} Após 3 sub.
T1 j = álcool 70% por 60 segundos, hipoclorito de sódio por 20 minutos, lavados três vezes com água destilada autoclavada.	50	26	28	0	0	0,0 c	0,00	0
T2 j = T1 + rifampicina 300 mg L ⁻¹ em agitação durante 24 horas.	50	28	3	0	19	38,0 b	4,40	84**
T3 j = T2 + hipoclorito de sódio 0,6% por 20 minutos seguido de três lavagens com água destilada autoclavada.	40	0	0	20	20	50,0 b	16,05	321ns
T4 j = T2 + hipoclorito de sódio 0,6% por 10 minutos seguido de três lavagens com água destilada autoclavada.	15	2	2	0	11	73,3ab	16,00	176ns
T5 a = T2 +hipoclorito de sódio 0,6% por 15 minutos seguido de três lavagens com água destilada autoclavada.	40	2	0	3	37	92.5a	11,72	434ns

j = plantas juvenis; e a = plantas adultas.

^{1/} O teste utilizado foi o qui-quadrado para várias proporções a 5% de significância;

^{2/} O teste utilizado foi o qui-quadrado para proporção de 16/1, sendo ns = diferença não significativa a 5% e ** significativo a 1%.

CONCLUSÕES

O antibiótico rifampicina é eficiente, na concentração de 300 mg L⁻¹ associada ao hipoclorito de sódio, para controlar bactérias endofíticas na micropropagação do mamoeiro.

O tempo de exposição dos explantes de 15 minutos em hipoclorito de sódio 0,6%, após prévia desinfestação em álcool 70% durante 60 segundos, hipoclorito de sódio 1% por 20 minutos, três vezes lavados em água estéril e rifampicina 300 mg L⁻¹ em agitação durante 24 horas, é ideal para a desinfestação de explantes de plantas adultas de mamoeiro nas condições em que foi executado o trabalho.

Contaminações por bactérias na micropropagação do mamoeiro provocam reduções na taxa de multiplicação.

REFERÊNCIAS

- AGNIHOTRI, S. SINGH, S. K.; JAIN, M. SHARMA, M.; SHARMA, A. K.; CHATURVEDI, H. C. In vitro cloning of male *Carica papaya* through tips of shoots and inflorescences. **Indian journal of biotechnology**. v. 3, p. 235-240. 2004.
- COSTA, A. de F. S. da; COSTA, A. N. da. Produção de mudas clonais de mamoeiro. In MARTINS, D. dos S.(ed.). **Papaya Brasil: qualidade do mamão para o mercado interno**. Vitória: Incaper, 2003. p. 317-320.
- DREW, R. A. The effects of medium composition and cultural conditions on *in vitro* root initiation and growth of papaya (*Carica papaya* L.). **HortScience**, v. 62, p. 6-551, 1987.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (ed.). **Cultura de tecidos e transformações genéticas das plantas**. v. 1, Brasília: Embrapa, 1998. p. 183-260.
- LEDO, C. A. da S.; FARIA, G. A. Experimentação em cultura de tecidos. In SOUSA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (ed.). **Introdução a micropropagação**. Cruz das Almas: EMBRAPA, 2006. Cap. 8, 141-152 p.
- LEIFERT, C.; MORRIS, C. E.; WAITES, W. M. Ecology of microbial saprophytes and pathogens in tissue culture and field-grown plants: reasons for contamination problems *in vitro*. **Crit. Rev. Plant. Science**. v. 13, p. 83-139, 1984.
- LIMA, D. J.; MORAES, W. da S. Controle de bactérias contaminantes em explantes de bananeira (*Musa* AAA cv. Caipira). **Pesquisa Agropecuária Tropical**. São Paulo: Unesp, v. 36, n. 3, p.181-186, 2006.
- MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue culture. **Annual review of plant physiology**. v. 25, p. 135-166, 1974.
- RAMALHO, M.; SANTOS, J, B. dos; PINTO, C. B. **Genética na agropecuária**. 7 ed., São Paulo: Editora Globo, 1989.
- ROMEIRO, R. da S. **Bactérias fitopatogênicas**. 2 ed., Viçosa: UFV, 2005.
- SANTOS-SEREJO, J. A. dos; JUNGHANS, T. G.; SOARES, T. L.; SILVA, K. M. da. Meios nutritivos para micropropagação de plantas. In SOUSA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (ed.). **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: EMBRAPA, 2006. Cap. 7, 79-98p.
- SCHMILDT, O.; SCHMILDT, E. R.; AMARAL, J. A. T. do; MARTINS FILHO, S. Multiplicação de ramos de mamoeiro "Tainung 01" em diferentes níveis de sulfato de adenina. In MARTINS, D. dos S.; COSTA, A. N. da; COSTA, A. de F. S. da. **Papaya Brasil: manejo, qualidade e mercado do mamão**. Vitória: Incaper, 2007. Cap. 20, 290-292p.

SILVA, H. S. A.; BETTIOL, W.; TERRASAN, C. R. F.; TOZZI, J. P. L.; MELO, I. S. de; NUNES, F. V. **Microorganismos endofíticos: potencial de uso como agentes de biocontrole de ferrugem do cafeeiro**. n. 38, Jaguariúna: EMBRAPA, 2006.

SOUSA, A. da S.; COSTA, M. A. P. de; SANTOS-SEREJO, J. A. dos; JUNGHANS, T. G.; SOUSA, F. V. D. Introdução à cultura de tecidos de plantas. In: SOUSA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (ed.). **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: EMBRAPA, 2006. Cap. 1, p. 11-37.

TEIXEIRA, M. A.; MELO, I. S. de; VIEIRA, R. F. **Ocorrência de bactérias diazotróficas endofitas na mandioca (*Manihot esculenta Crantz*)**. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, n. 34, Jaguariúna: EMBRAPA, 2005.

VIANNA, R. G. **Micropropagação do mamoeiro (*Carica papaya L.*) utilizando ápices caulinares de plantas adultas**. 1996, 66 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Programa de Pós Graduação em Fitotecnia, UFV, Viçosa, 1996.

ZAIDAN, H. A. **Micropropagação e uso de marcadores moleculares na determinação do sexo do mamoeiro**. 2002, 154 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós Graduação em Agronomia, UNESP Jaboticabal, 2002.

8 - CAPÍTULO 2

USO DE GIBERELINA (GA₃) NO ALONGAMENTO DE RAMOS DE MAMOEIRO PRODUZIDOS *IN VITRO*

Resumo - Dentre os fatores críticos na maioria dos sistemas de cultura de tecidos, a composição e concentração de hormônios são os mais determinantes. Quando as plântulas de mamoeiro apresentam um desenvolvimento insatisfatório da parte aérea, torna-se necessário promover um alongamento antes do enraizamento que pode ser feito pelo cultivo em meio de cultura contendo giberelina. Este trabalho teve como finalidade determinar níveis de giberelina no meio de cultura e verificar se existe a possibilidade da utilização desse regulador de crescimento após a autoclavagem junto ao meio de cultura para o alongamento de microestacas de mamoeiro. A pesquisa descrita foi realizada no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo. Explantes de mamoeiro “Tainung 01” multiplicados *in vitro* que não atingiram tamanho adequado para a promoção do enraizamento foram submetidos aos seguintes tratamentos: T1 – 0 GA₃; T2 – 0,5 mg L⁻¹ de GA₃ esterilizado a frio; T3 – 0,5 mg L⁻¹ de GA₃ esterilizado junto com o meio; T4 – 2,0 mg L⁻¹ de GA₃ esterilizado a frio; e T5 – 2,0 mg L⁻¹ de GA₃ esterilizado junto com o meio. A giberelina, quando incluída no meio após a esterilização, foi adicionada através de microfiltração por filtro Millipore®. Os resultados desta pesquisa indicam que a giberelina é eficiente no alongamento de microestacas de plantas adultas de mamoeiro “Tainung 01” nas concentrações 0,5 e 2,0 mg L⁻¹ esterilizado a frio. Foi observado que o GA₃, quando autoclavado, além de perder sua atividade, é prejudicial ao crescimento de microestacas de plantas adultas de mamoeiro.

Palavras-chave: *Carica papaya*, alongamento, GA₃.

USE OF GIBBERELLIN (GA₃) IN PROLONGATION OF BRANCHES OF PAPAYA TREE PRODUCED *IN VITRO*

Abstract - Among the critical factors in most of the systems of tissue culture, the composition and concentration of hormones are the more determinant. When the papaya tree explants present an unsatisfactory development of the aerial part, becomes necessary to promote a prolongation before the rooting that can be done by the cultivation in medium of culture containing GA₃. This research had as purpose to verify the effect of the gibberellins addition in the culture medium and to verify the possibility of the use of this growth regulator after the autoclaving on the culture medium for the prolongation of the papaya tree microcutting. The described research was accomplished in the Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal of the Espírito Santo. The Explants of papaya tree "Tainung 01" multiplied *in vitro* that didn't reach appropriate size for the promotion of the rooting were submitted to the following treatments: T1 - 0 GA₃; T2 - 0,5 mg L⁻¹ of GA₃ sterilized to cold; T3 - 0,5 mg L⁻¹ of GA₃ sterilized with the medium; T4 - 2,0 mg L⁻¹ of GA₃ sterilized to cold; T5 - 2,0 mg L⁻¹ of GA₃ sterilized with the medium. The gibberellin was added through microfiltering by filter Millipore® when included in the medium after the sterilization. The results of this research indicate that the gibberellin is efficient in the prolongation of microcutting of adult plants of papaya tree "Tainung 01" in the concentrations 0,5 and 2,0 mg L⁻¹ sterilized to cold. The GA₃, when autoclaved, besides losing activity, is harmful to the growth of microcutting of adult plants of papaya tree.

Key words: *Carica papaya*, prolongation, GA₃.

INTRODUÇÃO

Para o mamoeiro a micropropagação comercial ainda não é utilizada. Oliveira et al. (1996) e Schmildt (2006) relatam que os protocolos de micropropagação descritos por outros autores ainda não se encontram suficientemente aperfeiçoados para uso comercial. Além da composição dos meios nutritivos e das condições de cultura, diversos fatores, como o sexo, o clone, a idade da planta, a época de coleta dos explantes e o tipo de explante, influenciam no desenvolvimento *in vitro* dos explantes de mamoeiro (LITZ & CONOVER, 1978; OLIVEIRA et al., 1996; ALMEIDA et al., 2001).

A composição e a concentração de hormônios no meio são os fatores mais críticos e determinantes do crescimento e padrão de desenvolvimento na maioria dos sistemas de cultura de tecidos. As auxinas e as citocininas são as classes de reguladores de crescimento mais utilizadas na cultura de tecidos (COSTA et al., 2006). As citocininas são substâncias reguladoras de crescimento envolvidas principalmente na divisão, crescimento e diferenciação de células. Entretanto, concentrações elevadas de citocinina podem incrementar a atuação da citocinina-oxidase, impedindo a atuação da citocinina sobre a divisão celular e, conseqüentemente, a indução de brotações. Dessa forma, o efeito tóxico caracteriza-se, principalmente pelo baixo número de brotações, entufamento demasiado e falta de alongamento das hastes, redução do tamanho das folhas, encurtamento dos entrenós, engrossamento exagerado dos caules e vitrificação generalizada, o que leva a sérios problemas na fase de enraizamento (SANTOS-SEREJO et al., 2006). Além do aspecto da toxidez, o excesso de citocinina pode resultar no surgimento de um número muito elevado de gemas adventícias, o que

pode ser indesejável do ponto de vista da identidade clonal (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998; SANTOS-SEREJO et al., 2006).

As auxinas, na maioria dos casos, são dispensadas ou utilizadas em concentrações muito baixas na fase de multiplicação, pois tendem a estimular a produção de calos (SANTOS-SEREJO et al., 2006).

O ácido giberélico é capaz de estimular o crescimento em muitas plantas e seu efeito tem sido atribuído, basicamente, para a promoção de alongamento e divisão celular (CASTRO & VIEIRA, 2001). Sua eficiência tem sido baixa (TAGLIACOZZO, 1998). Mas, existem algumas exceções de espécies que mostram uma resposta nítida à presença de giberelina no meio (TAIZ & ZEIGER, 2004). Apesar das giberelinas estimularem o crescimento de órgãos já formados, podem inibir a iniciação de outros processos de formação de órgãos (GEORGE & SHERRINGTON, 1984; PEREIRA et al., 2006). Segundo Taiz & Zeiger (2004), a aplicação de giberelina promove o alongamento dos entrenós em várias espécies. No entanto, o estímulo mais pronunciado tem sido visto em espécies de plantas anãs ou em rosetas, bem como nos membros da família das gramíneas.

Em *Dyckia maritima*, uma Bromeliaceae, foi verificado que, quando os brotos laterais, dispostos em agrupamentos, são isolados, há ocorrência de várias brotações laterais, como conseqüência da perda da dominância apical e a formação destas estruturas dificultam o enraizamento. A concepção de brotações laterais no broto isolado se deve ao nível endógeno de citocininas, o qual se originou nos agrupamentos devido ao meio de cultivo anterior, utilizado para a multiplicação e regeneração de gemas. Sugere-se, para resolver esse problema, uma fase de alongamento das hastes. Esse, também, possibilitaria aumentar a sua sobrevivência e facilitaria a sua manipulação (FRANCO et al., 2003). Para o mamão, Reuveni et al. (1990) utilizaram o GA₃ para restaurar a dominância apical. Todavia ocorreu prejuízo na taxa de multiplicação.

Quando as plântulas de mamoeiro apresentam um desenvolvimento insatisfatório da parte aérea, torna-se necessário promover um alongamento antes do enraizamento que pode ser feito pelo cultivo em meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), suplementado com 0,23 mg L⁻¹ de BAP, 0,19 mg L⁻¹ de ANA e 1 mg L⁻¹ de giberelina (MANICA, 2006). O ácido giberélico (GA₃), para sua utilização em meios de cultura, deve ser dissolvido em água, pH ajustado para 5,7 com uma base (NaOH ou KOH 1N) e esterilizado por microfiltração por meio de

filtros especiais de acetato de celulose tipo Millipore[®], com poros de 0,2 μ , e adicionados ao meio já autoclavado quando este apresentar uma temperatura entre 40 e 45°C (SANTOS-SEREJO et al, 2006). Deve-se ter em conta que o GA₃ perde 90% de sua atividade ao ser esterilizada junto ao meio na autoclave (CARVALHO & VIDAL, 2003). Ramos de mamoeiro com bom aspecto, com folhas verdes escuras, sem hiperidricidade e boa taxa de multiplicação foram obtidos por Vianna (1996) e por Schmildt (2007), após três subcultivos, em meio MS contendo 30 mg L⁻¹ de sulfato de adenina.

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar o efeito da adição de níveis de giberelina no meio de cultura, antes e após a autoclavagem, visando verificar o seu efeito no alongamento de ramos de mamoeiro “Tainung 01”.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi realizado no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, onde foram plantadas sementes de mamoeiro “Tainung 01” em sacolas de polietileno preto de 21 X 13,5 cm no dia 19 de março de 2006. O substrato utilizado foi composto por esterco bovino bem curtido, areia e terra de subsolo, na proporção 1 : 1 : 3. Foram plantadas três sementes por sacola que germinaram entre 15 a 21 dias. Aos 30 dias após a semeadura foi feito um desbaste, deixando apenas uma planta por sacola.

Em agosto de 2006, 30 plantas de mamoeiro foram transplantadas, 10 para vasos de 18 litros e 20 para vasos de 25 litros. No substrato, utilizou-se terra de subsolo, húmus de minhoca, 100 gramas de superfosfato simples e 100 gramas de cloreto de potássio por metro cúbico.

Foram feitas pulverizações Kumulus[®] (fungicida) e Vertimec[®] (acaricida) e aplicação de nutrientes via foliar (Ouro Verde[®]) até o florescimento das plantas, o qual ocorreu entre nove e dez meses, quando foi possível a sexagem. Foram selecionadas 10 plantas hermafroditas, que foram decapitadas a 70 cm do colo. Visando estimular o desenvolvimento das gemas laterais, as plantas foram pulverizadas com solução contendo 500 mg L⁻¹ de BAP + 100 mg L⁻¹ de GA₃, conforme recomendado por Costa & Costa (2003), em três aplicações em intervalos semanais.

Os brotos de mamoeiro foram coletados das plantas em casa de vegetação e transportados em um *becker* contendo água destilada e autoclavada, coberto com papel alumínio, até o laboratório, para evitar o dessecamento. Na câmara de fluxo laminar, os brotos foram submetidos ao processo de desinfestação, cuja seqüência de eventos foi: álcool 70% durante 60 segundos, hipoclorito de sódio a 1% durante 20 minutos, lavados três vezes com água destilada autoclavada, rifampicina 300mg L⁻¹ em agitação a 100 rpm durante 24 horas, hipoclorito de sódio a 0,6% por 15 minutos, seguidos de três lavagens em água destilada autoclavada. Os brotos permaneceram 30 dias em meio de indução MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), contendo 0,093 mg L⁻¹ de ANA, 5,38 mg L⁻¹ de cinetina, 30 g L⁻¹ de açúcar cristal e 7 g L⁻¹ de ágar, sendo o pH corrigido para 5,7 antes da autoclavagem.

Foram inoculados 40 explantes. Os explantes foram três vezes subcultivados em meio MS contendo $0,45 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP e $0,93 \text{ mg L}^{-1}$ de cinetina, após o qual, originaram 434 microestacas, porém sem tamanho adequado para o enraizamento. Os explantes foram submetidos a uma repicagem com a eliminação do calo, por 30 dias, em meio MS, contendo $0,50 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP e $0,10 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA, 30 g L^{-1} de sacarose, 7 g L^{-1} de ágar (ZAIDAN, 2002).

Os explantes, entre 0,7 e 1 cm, foram submetidos a novo subcultivo em meio MS, suplementado com $0,23 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP, $0,19 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA para todos os tratamentos, sendo estes citados a seguir: T1 – 0 GA_3 ; T 2 – $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de GA_3 esterilizado a frio; T3 – $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de GA_3 esterilizado junto com o meio; T 4 – $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de GA_3 esterilizado a frio; e T 5 – $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de GA_3 esterilizado junto com o meio.

Após 35 dias, foram avaliados os tratamentos T2 e T4, que já haviam atingido tamanho adequado para enraizar ($< 2,0 \text{ cm}$), entretanto, os tratamentos sem GA_3 e com o regulador de crescimento esterilizado junto com o meio, como não haviam desenvolvido satisfatoriamente, foram avaliados apenas após 50 dias.

Os dados foram avaliados no Software SAEG[®] 9,1 2007. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 5 repetições, com 9 plantas por repetição. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias obtidas, comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelo resumo da análise de variância, observa-se que há diferença significativa para as médias de crescimento em comprimento da parte aérea de microestacas de mamoeiro “Tainung 01”, submetidos a diferentes concentrações de GA₃ esterilizado a frio e junto com o meio de cultura (Tabela 1).

Os tratamentos nos quais se utilizou giberelina, esterilizada a frio, não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância e apresentam os melhores resultados. Já o tratamento em que se adicionou 0,5 mg L⁻¹ de GA₃ esterilizado junto com o meio, não difere estatisticamente do tratamento que não se valeu de giberelina, mas são inferiores aos tratamentos 2 e 4 em que a giberelina foi adicionada após a esterilização do meio de cultura. O tratamento que não utilizou GA₃ não difere significativamente do tratamento com 0,5 mg L⁻¹ de GA₃ autoclavado junto com o meio (Tabela 1), mas, são superiores ao tratamento que empregou 2,0 mg L⁻¹ de GA₃ esterilizado junto ao meio. Esses dados indicam que o GA₃ não apenas perde a sua atividade ao ser esterilizada com a autoclave (Figura 1), como também em altas concentrações inibem o crescimento e/ou provocam fitotoxidez a microestacas de mamoeiro “Tainung 01” (Figura 2).

Tabela 1 - Resumo da análise de variância para o crescimento da parte aérea de microestacas de plantas adultas de mamoeiro “Tainung 01” com diferentes níveis de giberelina (GA₃) esterilizado junto ao meio de cultura e a frio, por microfiltragem.

FV	GL	QM	F
Tratamento	4	1,705	12,17**
Resíduo	20	0,140	
Total	24		

**Significativo em nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

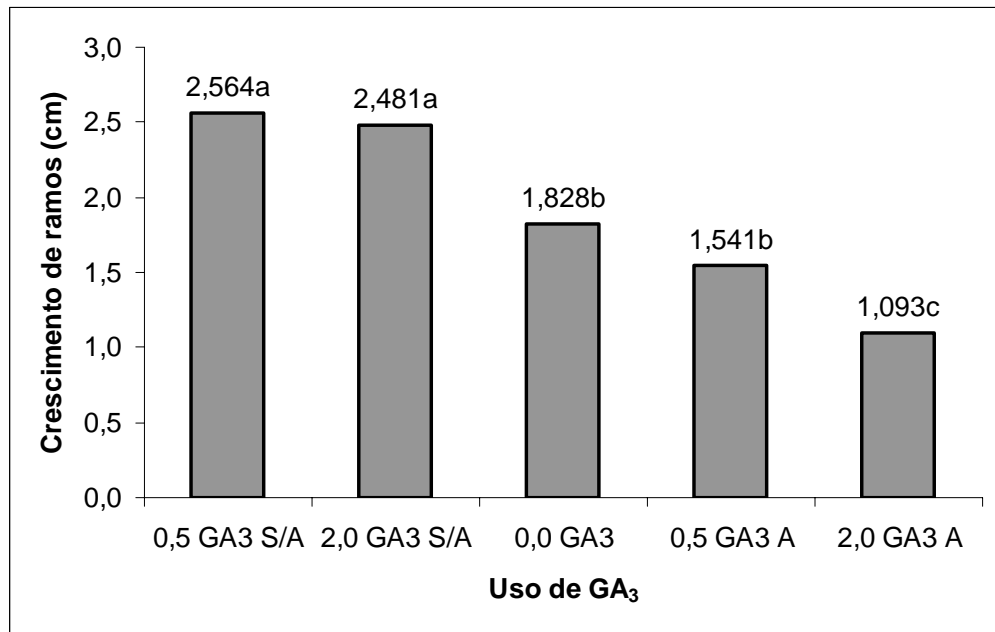


Figura 1 - Médias dos tratamentos para o crescimento da parte aérea de microestacas de mamoeiro “Tainung 01” em função dos níveis de GA₃ e o processo de adição antes da autoclavagem.

As médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente em nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

S/A = sem autoclavar; e A = autoclavado junto com o meio de cultura.

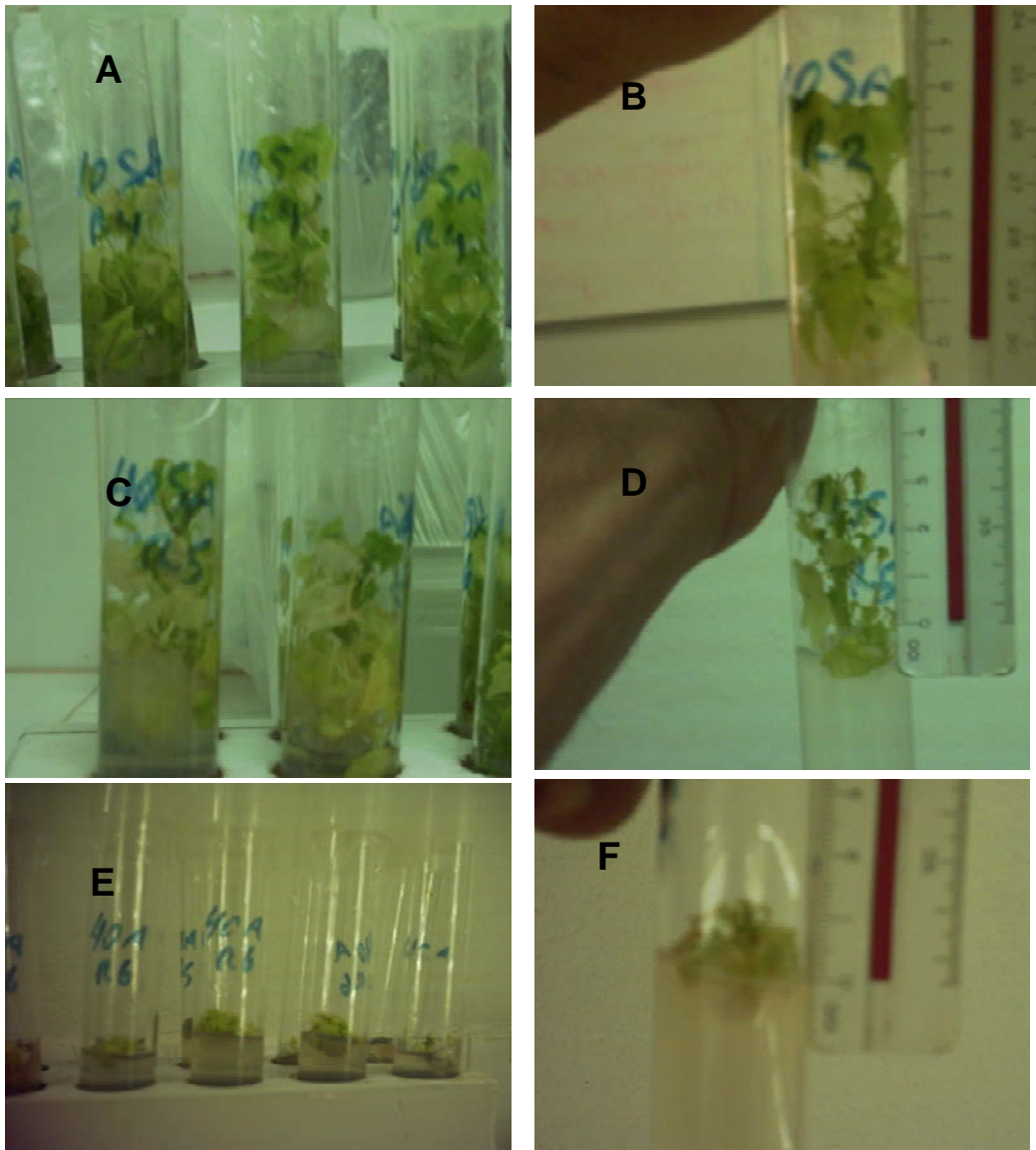


Figura 2 - A e B - ramos de mamoeiro “Tainung 01” em meio de alongamento contendo $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de GA_3 esterilizado a frio; C e D - meio com $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ esterilizado a frio; e E e F – brotos subcultivados em meio com $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de GA_3 esterilizado junto com o meio de cultura.

CONCLUSÕES

A giberelina nas concentrações de $0,5$ e $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ é eficiente no alongamento de plantas adultas de mamoeiro “Tainung 01”.

O GA_3 , em altas concentrações, quando autoclavado junto ao meio, reduz o alongamento das plantas.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, E. P. de; OLIVEIRA, R. P. de; DANTAS, J. L. Indução e desenvolvimento de calos e embriões somáticos em mamoeiro. **Scientia Agrícola**. v.58, n. 1, p. 51-54, 2001.
- CARVALHO, J. M. F. C.; VIDAL, M. S. **Noções de cultivo de tecidos vegetais**. 1 ed., n. 116, Campina Grande: EMBRAPA, 2003.
- COSTA, M. A. P. de C.; SOUSA, A. da S.; ALMEIDA, W. A. B. de. Morfogênese in vitro. In SOUSA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (ed.) **Introdução a micropropagação**. Cruz das Almas: EMBRAPA, 2006. Cap. 6, p. 115-130.
- COSTA, A. de F. S. da; COSTA, A. N. da. Produção de mudas clonais de mamoeiro. In MARTINS, D. dos S. (ed.). **Papaya Brasil: qualidade do mamão para o mercado interno**. Vitória: Incaper, 2003. p. 317-320.
- CASTRO, P. R. C.; VIEIRA, E. L. **Aplicações de reguladores de crescimento vegetais na agricultura tropical**. Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária, 2001.
- FRANCO, E. T. H.; SILVA, A. L. L. e GESING, J. P. A. Micropropagação de *Dyckia maritima* Baker - Bromeliaceae. **IX Congresso brasileiro de fisiologia vegetal**. Atibaia: Brazilian Journal of Plant Physiology. V. 15, 2003.
- GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. **Plant propagation by tissue culture: handbook and directory of commercial laboratories**. Eversley: Exegetics, 1984.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (ed.). **Cultura de tecidos e transformações genéticas das plantas**. Brasília: Embrapa, 1998. p. 183-260.
- LITZ, R. E.; CONOVER, R. A. Effect of sex type, season, and other factors on *in vitro* establishment and culture of *Carica papaya* L. explant. **Journal of the American society for horticultural science**, v. 106, n. 6, p. 792-794, 1981.
- MANICA, I. Cultivares e melhoramento. In MANICA, I.; MARTINS, D. dos S.; VENTURA, J. A. (ed.). **Mamão: Tecnologia de produção pós-colheita, exportação, mercados**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2006. p. 49-82.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497. 1962.
- OLIVEIRA, R. P.; DANTAS, J. L. L.; ALMEIDA, E. P.; NICKEL, O. VILARINHOS, A. D.; MORALES, C. F. G. Uso da biotecnologia no melhoramento genético e propagação do mamoeiro. In MENDES, L. G.; DANTAS, J. L. L.; MORALES, C. F. G. **Mamão no Brasil**. Cruz das Almas: EAUFBA, EMBRAPA, CNPMF, 1996.

PEREIRA, R. de C. A.; BERTOLUCCI, S. K. V.; CASTRO, E. M. de; SILVA, F. G. Germinação, avaliação do ácido giberélico e posição do explante no alongamento *in vitro* de *Uncaria guianensis* (Aublet) Gmelin Rubiaceae (Unha de gato). **Ciência agrotec.** Lavras, v. 30, n. 4, p. 637-642, 2006.

REUVENI, O.; SHLESINGER, D. R.; LAVI, U. In vitro clonal propagation of dioecious *Carica papaya*. **Plants Cell Tiss Org. Cult.**, v. 20, p. 6-41, 1990.

SANTOS-SEREJO, J. A. dos; JUNGHANS, T. G.; SOARES, T. L.; SILVA, K. M. da. Meios nutritivos para micropropagação de plantas. In SOUSA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (ed.). **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: EMBRAPA, 2006. Cap. 7, 79-98p.

SCHMILDT, O.; SCHMILDT, E. R.; AMARAL, J. A. T. do; MARTINS FILHO, S. Multiplicação de ramos de mamoeiro “Tainung 01” em diferentes níveis de sulfato de adenina. In MARTINS, D. dos S.; COSTA, A. N. da; COSTA, A. de F. S. da. **Papaya Brasil: manejo, qualidade e mercado do mamão**. Vitória: Incaper, 2007. Cap. 20, 290-292p.

SCHMILDT, O. **Multiplicação in vitro de mamoeiro “Tainung 01”**. 2006. 46 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Programa de Pós Graduação em produção Vegetal, UFES, Alegre, 2006.

TAGLIACOZZO, G. M. D. Fitormônios e seus efeitos biológicos *in vivo* e *in vitro*. In TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. **Micropropagação de plantas ornamentais**, Campinas: Instituto Agrônomo, 1998. p. 58-62.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

VIANNA, R. G. **Micropropagação do mamoeiro (*Carica papaya L.*) utilizando ápices caulinares de plantas adultas**. 1996, 66 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Programa de Pós Graduação em Fitotecnia, UFV, Viçosa, 1996.

Z Aidan, H. A. **Micropropagação e uso de marcadores moleculares na determinação do sexo do mamoeiro**. 2002, 154 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós Graduação em Agronomia, UNESP Jaboticabal, 2002.

9 - CAPÍTULO 3

ENRAIZAMENTO *EX VITRO* DE RAMOS MICROPROPAGADOS DE PLANTAS ADULTAS DE MAMOEIRO “TAINUNG 01”

Resumo - O enraizamento *ex vitro* é uma alternativa para a produção em massa de mudas obtidas por micropropagação do mamoeiro, pois representa uma considerável redução de custos de mão-de-obra e infra-estrutura, já que uma repicagem é eliminada. Nesta pesquisa, foram utilizadas como matrizes, 10 plantas hermafroditas mantidas em casa de vegetação até o florescimento, quando foram decapitadas as extremidades apicais e o tronco pulverizado com solução de 500 mg L⁻¹ de BAP e 300 mg L⁻¹ de GA₃ em três aplicações com intervalos semanais. Esses procedimentos tiveram o objetivo de estimular a formação de um maior número de brotos laterais. Esses foram retirados e levados ao laboratório de cultura de tecidos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, onde os explantes foram inoculados em meio de indução MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), contendo 0,093 mg L⁻¹ de ANA, 5,38 mg L⁻¹ de cinetina, 30 g L⁻¹ de açúcar cristal e 7 g L⁻¹ de ágar, sendo o pH corrigido para 5,7 antes da autoclavagem. Após 30 dias no meio de indução, os explantes foram submetidos a 3 subcultivos de 30 dias, em meio MS, contendo 0,45 mg L⁻¹ de BAP e 0,93 mg L⁻¹ de cinetina, 30 g L⁻¹ de sacarose, 10 mg L⁻¹ de mio-inositol e 7g L⁻¹ de ágar. Para o enraizamento *ex vitro* o experimento teve 16 tratamentos, sendo que os quatro primeiros utilizaram meio MS com 0,45 mg L⁻¹ de BAP, 0,093 mg L⁻¹ de ANA (ácido naftalenoacético) e 150 mg L⁻¹ de sulfato de adenina no último subcultivo, com 8 repetições; outros quatro tratamentos utilizaram o meio 0,45 mg L⁻¹ de BAP e 0,93 mg L⁻¹ de ANA: T5, T6, T7 e T8, com 5 repetições; e MS com 0,23 mg L⁻¹ de BAP, 0,19 mg L⁻¹ de ANA e 0,5

mg L⁻¹ de GA₃: T9, T10, T11 e T12 com 12 repetições e MS com 0,23 mg L⁻¹ de BAP, 0,19 mg L⁻¹ de ANA de GA₃ com 8 repetições. Sendo que cada parcela era composta por uma planta. Entre os tratamentos com plantas oriundas de diversos meios de cultura, foram testados também, níveis de ANA aplicados às extremidades basais das estacas, sendo 0, 10, 100, 1000 mg L⁻¹, carvão de madeira moído e o micronutriente boro, sozinho ou acompanhado com zinco e com cálcio. Concluiu-se com o trabalho que microestacas de mamoeiro quando transferidas após o último subcultivo para meio de cultura com 0,93 mg L⁻¹ de ANA apresentam rápido enraizamento e, conseqüentemente, aclimatização das plantas. Outros fatores, avaliados no presente trabalho, que apresentam resultados significativos são a aplicação de carvão de madeira moída e de solução de ácido bórico 0.006 mg L⁻¹.

Palavras-chave: enraizamento *ex vitro*, mamão, "Tainung 01".

ROOTING EX VITRO OF MICROPROPAGATED BRANCHES OF ADULTS PLANTS OF PAPAYA TREE "TAINUNG 01"

Abstract - In this research were used as matrix 10 plants hermaphrodites maintained in greenhouse until to flower, when the apical extremities were cut off and the trunk powdered with solution of 500 mg L⁻¹ of BAP and 300 mg L⁻¹ of GA₃, in three applications with weekly intervals. Those procedures had the objective of stimulate the formation of a larger number of lateral sprouts. These sprouts were removed and taken to the laboratory of tissue culture of the Centro de Ciências Agrárias of the Universidade Federal do Espírito Santo, where the explants were inoculated in MS medium containing 0,093 mg L⁻¹ of ANA, 5, 38 mg kinetin L⁻¹, 30 g L⁻¹ of granulated sugar and 7 g agar L⁻¹, being the pH corrected for 5,7 before the autoclaving. After 30 days in the induction medium, the explants were submitted to 3 subcultivations of 30 days, in medium MS, containing 0, 45 mg L⁻¹ of BAP and 0, 93 mg kinetin L⁻¹, 30 g L⁻¹ of sucrose, 10 mg of myo-inositol and 7 g L⁻¹ of agar. For the rooting former *ex vitro* the experiment had 16 treatments, being used in the first four medium MS with 0,45 mg L⁻¹ of BAP 0,093 mg L⁻¹ of ANA and 150 mg L⁻¹ of adenine sulfate in the last subcultivation, with 8 repetitions; other four treatments used the medium 0,45 mg L⁻¹ of BAP and 0,93 mg L⁻¹ of ANA: T5, T6, T7 and T8, with 5 repetitions; and MS with 0,23 mg L⁻¹ of BAP, 0,19 mg L⁻¹ of ANA and 0,5 mg L⁻¹ of GA₃: T9, T10, T11 and T12 with 12 repetitions and MS with 0,23 mg L⁻¹ of BAP, 0,19 mg L⁻¹ of ANA of GA₃ with 8. Each portion was composed by a plant. Among the treatments with plants originating from of several culture medium were also tested levels of ANA applied to the basal extremities of the cutting, being 0, 10, 100, 1000 mg L⁻¹, coal of wood ground and the boron micronutrients, alone or accompanied with zinc and with calcium. It was concluded with the work that papaya tree microcutting when transferred before the last cultivate to the culture medium with 0,93 mg L⁻¹ of ANA present fast rooting and, consequently, to acclimatization of the plants. Others factors appraised in this work that present significant results are the application of coal of wood ground and solution of acid boric 0.006 mg L⁻¹.

Key words: *ex vitro* rooting, papaya, "Tainung 01."

INTRODUÇÃO

Qualidade e competitividade tem sido o alvo das atividades agrícolas em geral. Na busca da otimização do processo de micropropagação do mamoeiro, a eliminação da etapa de enraizamento *in vitro* é desejável do ponto de vista econômico. Isso porque essa técnica representa uma considerável redução dos custos de mão-de-obra e infra-estrutura, pois elimina uma etapa de repicagem, disponibilizando espaço na sala de crescimento, além da economia de energia elétrica e de meio de cultura (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

O ambiente de enraizamento *ex vitro* exerce grande influencia sobre o sucesso dessa técnica. A alta umidade relativa do ar necessária no processo de enraizamento é um dos fatores limitantes (PASQUAL et al., 2001). Com a cultivar “Tainung 01” Schmildt (1996) obteve 50% de enraizamento *ex vitro*, porém a sobrevivência após a aclimatização dos ramos enraizados foi de 100%. Zaidan (2002) não obteve sucesso no enraizamento *ex vitro* citando que embora os resultados dos trabalhos com microestacas sejam bastante promissores, estas necessitam de um rigoroso controle das condições ambientais, por serem extremamente sensíveis com relação principalmente a temperatura e umidade do ar.

De acordo com Machado Filho et al. (2006), a espécie *Carica papaya* é extremamente sensível à variação da umidade do ar. O estabelecimento de condições de umidade relativa alta é um fator decisivo para a sobrevivência das plantas desde a sua retirada dos recipientes até a total adaptação ao novo ambiente. A utilização de casas de vegetação com equipamentos mais sofisticados e um sistema de nebulização programado, e até soluções baratas e criativas, como a utilização de copos plásticos, têm sido relatadas (SOUSA et al., 2006).

A combinação de fatores de estresse ou uma série de eventos estressantes podem reforçar, diminuir, mascarar ou reverter a resposta da planta a um simples fator de estresse (LARCHER, 2004). A adaptação e a aclimação ao estresse ambiental resultam de eventos integrados que ocorrem em todos os níveis de organização, desde o anatômico e morfológico até o celular, bioquímico e molecular (TAIZ & ZEIGER, 2004). Uma aquisição de tolerância durante a adaptação a um fator de estresse ocorre, geralmente, devido a uma mudança estrutural nas biomembranas e nas proteínas (LARCHER, 2004). Segundo Epstein & Bloom (2006), a exposição de plantas a temperaturas altas, mas não letais, induz a transcrição e a translocação de proteínas de choque térmico, que auxiliam as plantas na adaptação às novas condições as quais serão submetidas.

Para aumentar a percentagem de sobrevivência das plântulas nos estágios de aclimatização, o meio deve ser controlado em cada estágio simulando as condições onde as plântulas foram cultivadas nos estágios de multiplicação e enraizamento. As condições de propagação devem ser lentamente aproximadas das condições onde as plantas serão aclimatadas (PASQUAL, 2001).

A fase da aclimação é muito delicada, não só porque representa um estresse para a plântula, mas, também, pelo perigo de infecções por fungos e bactérias que podem se desenvolver neste estágio (COSTA, 1998). Uma prática utilizada na floricultura, citada por Maciel (1990), na produção de violetas e begônias, é a utilização de carvão moído no ponto de corte, para acelerar a cicatrização e evitar a entrada de microorganismos indesejáveis.

As citocininas participam na regulação de muitos processos do vegetal, incluindo a divisão celular, a morfogênese da parte aérea e das raízes, a maturação dos cloroplastos, o alongamento celular e a senescência. Tanto a citocinina quanto a auxina regulam o ciclo celular vegetal e são necessários para a divisão celular (TAIZ & ZEIGER, 2004). Para induzir a formação de raízes adventícias, a citocinina é geralmente omitida e as partes aéreas provenientes da multiplicação necessitam de auxina exógena de modo a estimular a formação e desenvolvimento de raízes. O tipo de auxina e a concentração utilizada influenciam a resposta rizogênese (SANTOS-SEREJO et al., 2006). Teo & Chan (1994) observaram ser necessária à adição da citocinina BAP para o sucesso do enraizamento do mamoeiro.

As raízes são extremamente sensíveis às auxinas (CASTRO & VIEIRA, 2001; TAIZ & ZEIGER, 2004). O alongamento da raiz primária é inibido por

concentrações de auxina maiores que 10^{-8} M, embora a iniciação de raízes laterais e adventícias seja estimulada por altos níveis de auxina (TAIZ & ZEIGER, 2004). Quando se aplica auxina a órgãos isolados, ocorre um aumento de resposta paralelo ao aumento da concentração até certo nível, após o qual ocorre um efeito inibitório (CASTRO & VIEIRA, 2001). Mesmo quando o nível de auxina endógena na região de alongamento de uma planta sadia normal está próximo do ótimo para o crescimento, a aspersão com auxina exógena resulta em um modesto e breve estímulo no crescimento. Podendo até ser inibitório, no caso de plântulas que crescem no escuro e são mais sensíveis à concentração supra-ótimas de auxina do que as plantas que crescem na presença de luz (TAIZ & ZEIGER, 2004). Para Litz & Conover (1978), o ANA (ácido naftalenoacético) é mais eficiente na promoção do enraizamento, em microestacas de mamoeiro, do que o AIA (ácido indolacético).

Dentre os nutrientes minerais, o boro exerce funções importantes relacionadas à estrutura da parede celular e com as substâncias pécticas associadas a ela, especialmente a lamela média (EPSTEIN & BLOOM, 2006). Segundo Assis & Teixeira (1998), o boro tem sido muitas vezes considerado mais importante no crescimento de raízes do que no enraizamento, mas em algumas espécies, reage sinergicamente com as auxinas, aumentando a porcentagem de enraizamento, o número de raízes por estaca e o comprimento de raízes.

O cálcio é essencial para a integridade da membrana plasmática das células vegetais, especificamente para a seletividade do transporte de íons que elas realizam, além de interligar as cadeias pécticas, como o boro, contribuindo conseqüentemente para a sua estabilidade e afetar as propriedades mecânicas do gel péctico (EPSTEIN & BLOOM, 2006).

O aumento de níveis endógenos de AIA (ácido indolacético) pode ser favorecido pelo zinco, por meio de seu efeito no aumento da produção de triptofano (ASSIS & TEIXEIRA, 1998). Os íons de zinco regulam a conformação do domínio da proteína que se conecta com o DNA, atuando na transcrição da qual depende a síntese protéica (EPSTEIN & BLOOM, 2006).

O estudo teve por objetivo avaliar os efeitos de níveis de ANA no meio de cultura utilizado no último subcultivo, seguido de diferentes níveis de ANA, adição de carvão de madeira moído e nutrientes Ca, B e Zn aplicados nas extremidades basais das microestacas antes do plantio em substrato.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, localizado em Alegre-ES. No enraizamento *ex vitro*, utilizaram-se microestacas de mamoeiro *Carica papaya* L cv. "Tainung 01", originadas de plantas hermafroditas, cultivadas em vasos de 25 litros de capacidade até a floração de modo a permitir a identificação sexual. Feito isso, as plantas foram decepadas à altura de 60 cm do colo e submetidas à pulverização do tronco com uma solução contendo uma mistura de 500 mg L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BAP) e 100 mg L⁻¹ de ácido giberélico (GA₃), por três vezes, a intervalos semanais, com o objetivo de estimular o desenvolvimento de brotações laterais (COSTA & COSTA, 2003).

Com o desenvolvimento dos brotos laterais, esses foram retirados das plantas e transportados submersos em água destilada autoclavada para a sala de inoculação. Na câmara de fluxo laminar, os brotos foram submetidos ao processo de desinfestação, cuja seqüência de eventos foi: álcool 70% durante 60 segundos, hipoclorito de sódio a 1% durante 20 minutos, lavados três vezes com água destilada autoclavada, rifampicina 300mg L⁻¹ em agitação a 100 rpm durante 24 horas, hipoclorito de sódio a 0,6% por 15 minutos, seguidos de três lavagens em água destilada autoclavada.

Foram inoculados 50 explantes, os quais permaneceram 30 dias em meio de indução MS contendo 0,093 mg L⁻¹ de ANA, 5,38 mg L⁻¹ de cinetina, 30 g L⁻¹ de açúcar cristal e 7 g L⁻¹ de ágar. O pH foi corrigido para 5,7 antes da autoclavagem. Após esse procedimento, os explantes foram transferidos para sala de cultivo com fotoperíodo de 16 horas e deixados em prateleiras com duas lâmpadas fluorescentes em cada uma delas. A temperatura da sala de cultivo variou de 26 a 28°C. Os explantes foram mantidos em sala de cultura, sob lâmpadas fluorescentes fornecendo 22,8 µmol/m²/s de fluxos de fótons fotossintéticos e 16 horas de fotoperíodo.

Os explantes foram submetidos a 3 subcultivos em meio MS, contendo 0,45 mg L⁻¹ de BAP, 0,93 mg L⁻¹ de cinetina, 30 g L⁻¹ de sacarose, 10 mg L⁻¹ de mio-inositol, 7g L⁻¹ de ágar. Após esse período, os brotos foram contados e removidos o calo das extremidades, sendo posteriormente, cultivados em meio MS com 0,50 mg L⁻¹ de BAP e 0,10 mg L⁻¹ de ANA (ZAIDAN, 2002).

Os explantes foram transferidos para meio MS com 0,45 mg L⁻¹ de BAP, 0,093 mg L⁻¹ de ANA e 150 mg L⁻¹ de sulfato de adenina (Figura 1). Após 30 dias, uma parte dos ramos (50 frascos com 5 explantes por frasco) foi transferida para meio MS com 0,45 mg L⁻¹ de BAP, 0,093 mg L⁻¹ de ANA e 150 mg L⁻¹ de sulfato de adenina. Alguns explantes (25 frascos com 5 explantes por frasco) foram transferidos para um meio com alta relação auxina X citocinina: MS com 0,45 mg L⁻¹ de BAP e 0,93 mg L⁻¹ de ANA. Com a outra parte dos brotos, foi montado um experimento testando níveis de GA₃, sendo utilizado o meio MS com 0,23 mg L⁻¹ de BAP, 0,19 mg L⁻¹ de ANA e as concentrações de 0, 0,5 e 2 mg L⁻¹ de GA₃, esterilizado a frio e autoclavado junto ao meio, em um total de 5 tratamentos, com 5 repetições e 09 brotos por parcela, totalizando 225 tubos de ensaio, com um broto por tubo. Brotos obtidos de diferentes meios de cultura foram padronizados utilizando-se apenas os que se encontravam em tamanho entre 2,5 e 4,5 cm, em número variável e de acordo com a quantidade disponível.

Para o enraizamento *ex vitro*, com microestacas oriundas do meio com baixa concentração de auxina (0,093 mg L⁻¹) (Tabela 1), seguiram-se os seguintes tratamentos: imersão da base das estacas em solução contendo as concentrações: T1 - 0; T2 - 10; T3 - 100 e T4 - 1000 ml L⁻¹ de ANA e posterior passagem sobre cinza de madeira das suas extremidades basais. Foram utilizados ramos de 2,5 a 4,5 cm. Os ramos foram plantados em copos plásticos transparentes e copos de plástico leitoso invertidos na parte superior para simular uma câmara úmida, sendo irrigados uma vez por dia com água destilada autoclavada. Utilizaram-se quatro tratamentos, sendo 4 níveis de auxina (ANA), com 8 repetições e com uma planta por parcela.

Os explantes subcultivados em meio com concentração mais elevada de ANA (0,93 mg L⁻¹) foram mantidos em sala de cultura, sob lâmpadas fluorescentes fornecendo 22,8 μmol/m²/s de fluxos de fótons fotossintéticos e 16 horas de fotoperíodo.

Para o enraizamento *ex vitro*, seguiram-se os seguintes tratamentos: imersão da base das estacas em solução contendo as concentrações: T5 - 0; T6 - 10; T7 - 100 e T8 - 1000 ml L⁻¹ de ANA e posterior passagem sobre cinza de madeira das suas extremidades basais. Foram utilizados ramos de 2,5 a 4,5 cm. Esses foram plantados em copos plásticos transparentes e copos de plástico leitoso invertidos na parte superior para simular uma câmara úmida, sendo irrigados uma vez por dia com água destilada autoclavada. As avaliações foram feitas 45 dias após

o plantio. Esses quatro tratamentos tiveram cinco repetições e uma planta por parcela.

Tabela 1 - Comprimento, peso e número de brotações de cinco frascos coletados aleatoriamente para o primeiro teste de enraizamento *ex vitro* de microestacas de mamoeiro “Tainung 01”, que tiveram o último subcultivo em meio MS com 0,45 mg L⁻¹ de BAP, 0,093 mg L⁻¹ de ANA e 150 mg L⁻¹ de sulfato de adenina.

Planta	Comprimento do maior ramo	Peso da matéria fresca do maior broto	Número total de brotos por frasco	Comprimento dos brotos acima de 0,5 cm
R1	3,5	0,407	9	1,8; 1,1; 1,3; 1,1; 1,6
R2	2,7	0,305	11	1,4; 1,0; 1,3; 0,6; 0,9
R3	2,6	0,401	14	1,0; 0,8; 1,3; 0,7; 1,0
R4	2,4	0,343	6	0,7; 1,2; 0,7; 0,7; 1,3
R5	3,6	0,571	9	0,8; 1,1; 0,7; 0,9; 1,4
Médias	2,96	0,4054	9,8	1,056

No experimento em que foram avaliados os níveis de GA₃, após 35 dias, os tratamentos que continham GA₃ nas concentrações de 0,5 e 2,0 mg L⁻¹ esterilizados a frio com o filtro millipore[®], já haviam atingido tamanho adequado para enraizar (> 2,0 cm) e não apresentavam diferença significativa entre eles, sendo utilizados no experimento de enraizamento. Para as microestacas, oriundas do meio contendo 0,5 mg L⁻¹ de GA₃ esterilizado a frio, seguiram-se os seguintes tratamentos: T9 - imersão da base das estacas em solução 10 mg L⁻¹ de ANA e posterior passagem das extremidades basais das microestacas em carvão moído; T10 - apenas carvão de madeira moído; T11 - imersão da base das estacas em solução 10 mg L⁻¹ de ANA; e T12 - plantio sem nenhum tratamento. Utilizaram-se, para esses quatro tratamentos, 12 repetições e uma planta por repetição. Já para as microestacas oriundas de meio com 2 mg L⁻¹ de GA₃, esterilizado a frio, seguiram-se os seguintes tratamentos: T13 - imersão das bases das estacas em 10 mg L⁻¹ de ANA; T14 - imersão da base das estacas em solução contendo a concentrações 10 mg L⁻¹ de ANA e 0,006 g L⁻¹ de ácido bórico; T15 - imersão da base das estacas em solução contendo a

concentrações 10 mg L^{-1} de ANA, $0,006 \text{ g L}^{-1}$ de ácido bórico e $0,008 \text{ g L}^{-1}$ de sulfato de zinco; e T16 - imersão da base das estacas em solução contendo a concentrações 10 mg L^{-1} de ANA, $0,006 \text{ g L}^{-1}$ de ácido bórico, $0,008 \text{ g L}^{-1}$ de sulfato de zinco e $0,44 \text{ g L}^{-1}$ de cloreto de cálcio. Cada um desses quatro tratamentos possuía 8 repetições e uma planta por parcela. Foram utilizados para o enraizamento *ex vitro* ramos de 2,5 a 4,5 cm que foram plantados em copos plásticos transparentes e copos de plástico leitoso invertidos na parte superior para simular uma câmara úmida, sendo as plantas irrigadas uma vez por dia com água destilada autoclavada. As avaliações foram feitas 45 dias após o plantio.

O experimento foi conduzido num delineamento inteiramente casualizado, com 16 tratamentos, sendo que T1, T2, T3 e T4 tiveram oito repetições; T5, T6, T7 e T8, cinco; T9, T10, T11 e T12, tiveram doze, e T13, T14, T15 e T16, oito repetições. Cada parcela foi composta por uma planta (Figura 1). Os dados foram avaliados no Softwer SAEG[®] 9,1 2007.

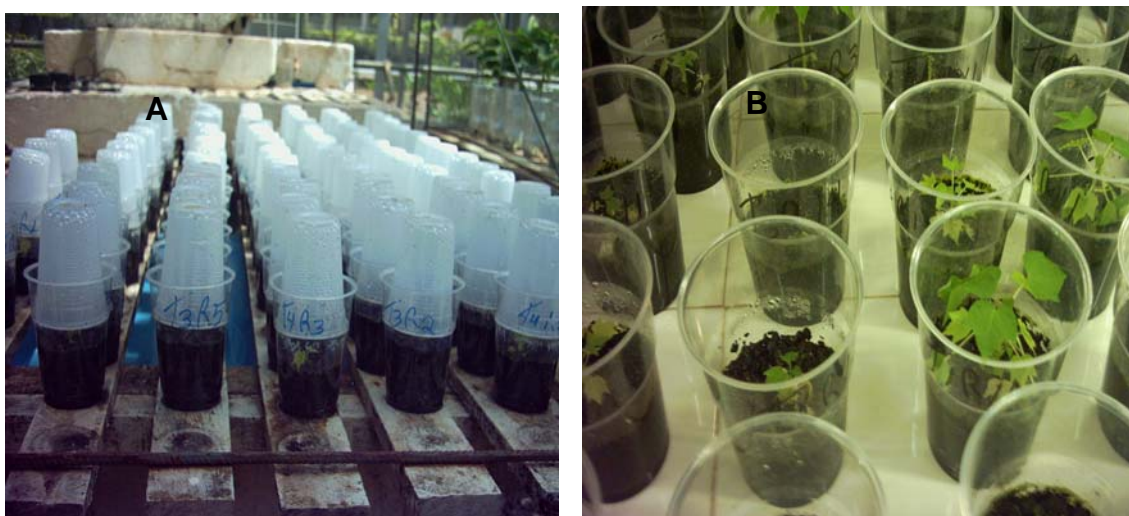


Figura 1 - A - enraizamento *ex vitro* de plantas adultas de mamoeiro; B - plantas já aclimatadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os explantes que haviam sido subcultivados três vezes em meio MS, contendo $0,45 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP e $0,93 \text{ mg L}^{-1}$ de cinetina, apresentaram sintomas de fitotoxidez por excesso de citocinina. Com a eliminação do calo, e o subcultivo por 30 dias em meio MS com $0,50 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP e $0,10 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA e mais 30 dias em meio MS com $0,45 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP, $0,10 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA e 30 mg L^{-1} de sulfato de adenina, eliminaram-se, assim, os sintomas de fitotoxidez (superbrotamento e engrossamento da base) (Figura 2).

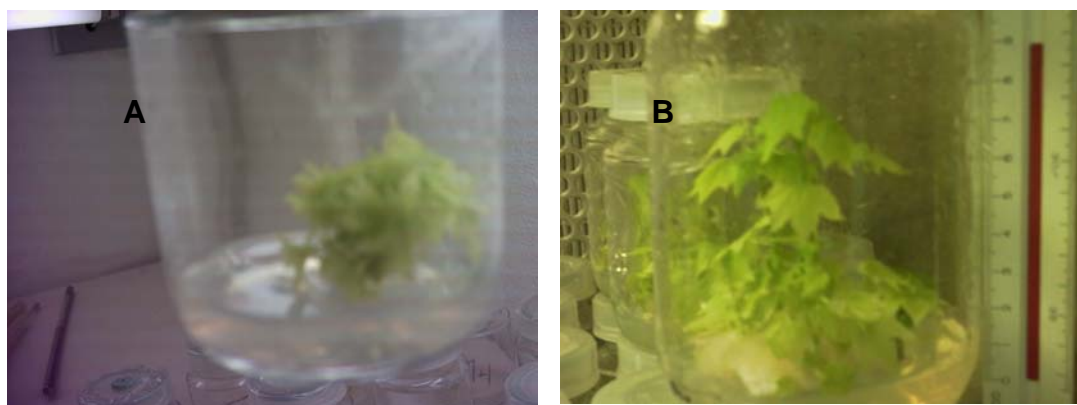


Figura 2 - A - explantes apresentando sintomas de fitotoxidez por excesso de citocinina; B - explantes recuperados.

A análise de variância para o comprimento radicular (Tabela 2) não apresenta resultado significativo em nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2 - Resumo da análise de variância para o comprimento radicular de microestacas de plantas adultas de mamoeiro “Tainung 01”.

FV	GL	QM	F
Tratamento	15	8,793520	1,755 ^{ns}
Resíduo	115	5,009941	
Coefficiente de variação = 176,477			

^{ns} não significativo em nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

O resultado da análise de variância para o comprimento da parte aérea é significativo (Tabela 3).

Para o número de raízes, os dados foram transformados adicionando um valor constante K (0,5), pois, segundo Ledo & Faria (2006), quando se analisa um conjunto de dados não normais, tratando como se fossem normais, as interferências obtidas podem afastar-se da realidade, dependendo da gravidade do problema. O teste F apresenta resultado não significativo para esse parâmetro em nível de 5% (Tabela 4).

Tabela 3 - Resumo da análise de variância para o comprimento da parte aérea de microestacas de plantas adultas de mamoeiro "Tainung 01".

FV	GL	QM	F
Tratamento	15	4,457969	1,747*
Resíduo	115	2,551107	
Coefficiente de variação = 148,605			

*Significativo em nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 4 - Resumo da análise de variância para o número de raízes de microestacas de plantas adultas de mamoeiro "Tainung 01".

FV	GL	QM	F
Tratamento	15	0,5600413	1,332 ^{ns}
Resíduo	115	0,4203223	

^{ns} Não significativo em nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Apesar do teste F indicar resultado não significativo para o crescimento radicular e para o número de raízes, as médias apresentam resultados significativos para todos os parâmetros avaliados pelo teste de Duncan em nível de 5% de probabilidade (Tabela 5). Isso se deve ao fato de os valores calculados estarem muito próximos dos Tabelados para 5% de significância pelo teste F. De acordo com Storck et al. (2006), para a aplicação de testes de comparação múltipla com Tukey e Duncan não, é exigida a significância do teste F para tratamentos, necessitando apenas das médias estimadas dos tratamentos e de uma estimativa da variância do erro experimental com o respectivo número de graus de liberdade.

Tabela 5 - Avaliação dos experimentos 1, 2, 3 e 4 de enraizamento *ex vitro* de microestacas de mamoeiro após 45 dias da transferência das microestacas para substrato plantimax[®] hortaliças, em copos transparentes com copos descartáveis de plástico leitoso invertidos na parte superior, simulando câmaras úmidas individuais.

Meio de cult. ant. (mg L ⁻¹)	Pós-tratamento ANA (mg L ⁻¹)	Comprimento radicular (cm)	Comprimento parte aérea (cm)	N. raiz.	N. de plantas não enr.	N. de plantas mortas	% de plantas enraizadas
0, de BAP,	T1 - Carvão moído (CM)	2,00 a b c	1,92 a b c	1,43 a	0	3	62,5
0,093 de ANA e	T2 - CM, e 10 ANA	0,36 c	0,25 c	0,77 b	6	1	12,5
150 de sulf. de adenina.	T3 - CM e 100 ANA	1,16 b c	1,11 a b c	1,15 a b	2	2	50,0
	T4 - CM e 1000 ANA	0,53 c	0,96 a b c	1,02 a b	2	4	37,5
0,45 de BAP e	T5 - CM	4,02 a b	3,04 a	1,65 a	0	1	80
0,93 de ANA	T6 - CM 10 de ANA	4,28 a	2,64 a b	1,65 a	2	0	60
	T7 - CM e 100 de ANA	1,76 a b c	1,60 a b c	1,08 a b	1	1	60
	T8 - CM e 1000 de ANA	1,54 a b c	1,60 a b c	1,32 a b	0	1	80
0,23 de BAP, 0,19 de ANA e 0,5 de GA ³	T9 - CM e 10 de ANA	0,94 c	0,77 b c	1,03 a b	4	6	16,6
	T10 - CM	1,54 a b c	1,20 a b c	1,21 a b	0	9	33,3
	T11 - 10 de ANA	0,70 c	0,62 b c	0,94 a b	3	7	16,6
	T12 - Testemunha	1,23 b c	1,09 a b c	1,15 a b	4	4	33,33
0,23 BAP, 0,19 ANA e 2 de GA ³ .	T13 - 10 ANA	0,00 c	0,00 c	0,70 b	3	4	12,5
	T14 - 10 ANA e Boro	1,70 a b c	1,21 a b c	1,20 a b	1	4	37,5
	T15 - 10 ANA, B e Zinco.	0,00 c	0,00 c	0,70 b	3	5	0
	T16 - 10 ANA B, Zn e Cálcio	1,11 b c	1,03 a b c	1,20 a b	4	1	37,5

As médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Duncan.

Os ramos, oriundos do meio de multiplicação contendo $0,45 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP, $0,093 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA e 150 mg L^{-1} de sulfato de adenina que tiveram como pós-tratamento as suas extremidades basais tratadas apenas com carvão moído (T1), proporcionaram a maior média, tanto para o crescimento radicular, quanto para o comprimento da parte aérea em relação aos tratamentos oriundos do mesmo meio de cultura (T2, T3 e T4). Esses dados indicam que as microestacas de mamoeiro, que tiveram o último subcultivo nesse meio de multiplicação, não necessitam a aplicação de auxina na forma de ANA como tratamento das extremidades basais antes da transferência dos brotos para o substrato.

Os tratamentos que tiveram seu último subcultivo em meio com alta concentração de ANA de $0,93 \text{ mg L}^{-1}$, resultaram nas maiores médias de comprimento radicular e comprimento da parte aérea dentre todos os outros (Figura 3). Os melhores tratamentos das microestacas, para esse meio de cultura, foram os que tiveram as bases das microestacas tratadas com carvão de madeira moído sem regulador de crescimento e com 10 mg L^{-1} de ANA. Entretanto, no tratamento que utilizou ANA (T6), algumas plantas não enraizaram o que não ocorreu no tratamento sem o regulador de crescimento.

Para o meio de cultura com $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de GA_3 , o tratamento apenas com carvão moído (T10) é o mais eficiente no enraizamento de microestacas de mamoeiro, em comparação ao que não utilizou o carvão. Para os tratamentos que tiveram o último subcultivo nesse meio de cultura, a adição da auxina também foi prejudicial ao enraizamento.

Para o meio de cultura com $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de GA_3 , os piores tratamentos são os que utilizaram ANA 10 mg L^{-1} (T13) e ANA 10 mg L^{-1} , boro e zinco (T15) na concentração de $0,006 \text{ mg L}^{-1}$ (T15), nos brotos, nesse tratamento, nenhuma planta enraizou. É possível que a adição de zinco tenha provocado um aumento na produção de AIA (ácido indolacético), que é a auxina natural, produzida pelas plantas e que sua produção tenha sido estimulada pelo nutriente zinco (TAIZ & ZEIGER, 2004). Esse aumento, na concentração de auxina endógena, resulta na inibição do enraizamento, uma vez que concentrações supra-ótimas de auxina inibem o enraizamento. Com a adição de cálcio (T16), houve significativo enraizamento o que provavelmente possa ser devido ao aumento do pH provocado pelo cálcio que tende a reduzir os níveis tóxicos provocados pelos íons de metais (EPSTEIN & BLOOM, 2006). O tratamento com 10 mg L^{-1} de ANA e com boro na

concentração de $0,006 \text{ mg L}^{-1}$ mostra resultados significativos para as microestacas que tiveram o último subcultivo nesse meio.



Figura 3 - Planta de mamoeiro “Tainung 01” micropropagada apresentando excelente desenvolvimento e enraizamento.

Em relação ao meio de cultura utilizado no último subcultivo, foram feitos os seguintes contrastes sugeridos pelos dados:

$$Y_1 = T5 + T6 + T7 + T8 - T1 - T2 - T3 - T4$$

$$Y_2 = T1 + T2 + T3 + T4 + T5 + T6 + T7 + T8 - T9 - T10 - T11 - T12 - T13 - T14 - T15 - T16$$

$$Y_3 = T9 + T10 + T11 + T12 - T13 - T14 - T15 - T16$$

Os resultados da análise de variância para os contrastes Y_1 e Y_2 foram significativos em nível de 1% de probabilidade, para todos os parâmetros analisados (Tabelas 6, 7 e 8), no entanto, o contraste Y_3 não foi significativo para nenhum dos parâmetros avaliados.

Para o meio de cultura utilizado no último subcultivo, pode-se verificar pelo contraste Y_1 que meios com alta concentração de auxina são melhores para o enraizamento *ex vitro* do mamoeiro “Tainung 01” do que meios com baixa concentração de auxina.

Tabela 6 - Resumo da análise de variância do contraste Y_1 , Y_2 e Y_3 para o comprimento radicular.

FV	GL	QM	F
Tratamentos	(15)	8,793520	-
Contraste Y_1	1	43,63056	8,70**
Contraste Y_2	1	19,29375	3,85**
Contraste Y_3	1	2,726191	0,54 ^{ns}
Resíduo	115	5,009941	

**significativo em nível de 1% de probabilidade pelo teste F;

^{ns} não significativo em nível de 5 % de probabilidade pelo teste F.

Tabela 7 - Resumo da análise de variância do contraste Y_1 , Y_2 e Y_3 para o comprimento da parte aérea.

FV	GL	QM	F
Tratamentos	(15)	4,4557969	-
Contraste Y_1	1	16,48992	6,46**
Contraste Y_2	1	16,15805	6,33**
Contraste Y_3	1	2,233512	0,87 ^{ns}
Resíduo	115	2,551107	

**significativo em nível de 1% de probabilidade pelo teste F;

^{ns} não significativo em nível de 5 % de probabilidade pelo teste F.

Tabela 8 - Resumo da análise de variância do contraste Y_1 , Y_2 e Y_3 para o número de raízes.

FV	GL	QM	F
Tratamentos	(15)	0,5600413	-
Contraste Y_1	1	1,473122	3,50**
Contraste Y_2	1	1,121145	2,66**
Contraste Y_3	1	0,3043983	0,72 ^{ns}
Resíduo	115	0,4203223	

**significativo em nível de 1% de probabilidade pelo teste F;

^{ns} não significativo em nível de 5 % de probabilidade pelo teste F.

Para todos os parâmetros avaliados, pode-se verificar que meios com GA₃ demonstram resultados inferiores para o enraizamento em relação aos meios que não utilizaram esse regulador de crescimento. Esses resultados corroboram a afirmação de Taiz & Zeiger (2004) de que o GA₃ estimula o crescimento de muitas espécies vegetais, porém inibe a organogênese.

Os meios com 0,5 e 2,0 mg L⁻¹ de GA₃ não apresentam diferença significativa em nível de 5% de probabilidade pelo teste F, indicado pela análise de variância do contraste Y₃ para todos parâmetros analisados.

CONCLUSÕES

Microestacas de mamoeiro, cujo último meio de subcultivo foi MS com 0,45 mg L⁻¹ de BAP e 0,93 mg L⁻¹ de ANA, têm enraizamento e crescimento das plantas superior às provenientes dos outros meios testados.

Microestacas de mamoeiro que tiveram o último subcultivo em meio de cultura contendo GA₃ apresentam enraizamento inferior às provenientes de meios sem giberelina.

Carvão de madeira moído, utilizado como tratamento na base das microestacas de mamoeiro, auxilia o enraizamento das microestacas de mamoeiro.

O boro na concentração utilizada no meio MS (0,006 mg L⁻¹), utilizado no tratamento das microestacas de mamoeiro, estimula o enraizamento nas condições em que foi montado o experimento.

REFERÊNCIAS

- ASSIS, T. F. de; TEIXEIRA, S. L. Enraizamento de plantas lenhosas. In TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (ed.). **Cultura de tecidos e transformações genéticas das plantas**. Brasília: Embrapa, 1998. 261-296 p.
- COSTA, A. de F. S. da; COSTA, A. N. da. Produção de mudas clonais de mamoeiro. In MARTINS, D. dos S. (ed.). **Papaya Brasil: qualidade do mamão para o mercado interno**. Vitória: Incaper, 2003. p. 317-320.
- COSTA, A. M. M. Fisiologia da aclimação. In TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. **Micropropagação de plantas ornamentais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1998. p. 63-67.
- CASTRO, P. R. C.; VIEIRA, E. L. **Aplicações de reguladores de crescimento vegetais na agricultura tropical**. Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária, 2001.
- EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2 ed., Londrina: Editora Planta. 2006.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (ed.). **Cultura de tecidos e transformações genéticas das plantas**. Brasília: Embrapa, 1998. p. 183-260.
- LARCHER, W. **Fisiologia vegetal**. São Paulo: Rima, 2004.
- LEDO, C. A. da S.; FARIA, G. A. Experimentação em cultura de tecidos. In SOUSA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (ed.). **Introdução a micropropagação**. Cruz das Almas: EMBRAPA, 2006. Cap. 8, 141-152 p.
- LITZ, R. E.; CONOVER, R. In vitro propagation of papaya. **Hort. Sci.** v. 13, p. 2-241, 1978.
- MACHADO FILHO, J. A.; CAMPOSTRINI, E.; YAMANISHI, O. K.; FAGUNDES, G. R. Variação sazonal das trocas gasosas em folhas de mamoeiro cultivado em condições de campo. **Bragantia**. Campinas, v. 65, n. 2, p. 185-196, 2006.
- MACIEL, S. da C.; VOLTOLINI, J. A.; PEDROTTI, E. L. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização da porta-enxerto de macieira marubakaido micropropagada. **Revista brasileira de fruticultura**. Jaboticabal - SP, v. 24, n. 2, p. 289-292, ago. 2002.
- MACIEL, A. L. A. (ed.). Guia das flores. **Guia rural**. São Paulo: Editora Abril, 1990.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497. 1962.

OLIVEIRA, R. P.; DANTAS, J. L. L.; ALMEIDA, E. P; NICKEL, O. VILARINHOS, A. D.; MORALES, C. F. G. Uso da biotecnologia no melhoramento genético e propagação do mamoeiro. In MENDES, L. G.; DANTAS, J. L. L.; MORALES, C. F. G. **Mamão no Brasil**. Cruz das Almas: EAUFBFA, EMBRAPA, CNPMF, 1996.

PASQUAL, M. **Introdução: fundamentos básicos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001.

PASQUAL, M.; CHAIFUN, N. N. J.; RAMOS, J. D. **Aplicações na propagação de plantas**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001.

SANTOS-SEREJO, J. A. dos; JUNGHANS, T. G.; SOARES, T. L.; SILVA, K. M. da. Meios nutritivos para micropropagação de plantas. In SOUSA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (ed.). **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: EMBRAPA, 2006. Cap. 7, 79-98p.

SCHMILDT, E. R. **Enraizamento “in vitro” e “ex vitro” de ramos de mamoeiro (Carica papaya)**. 1994, 84 f. Dissertação (Mestrado em fitotecnia) – Programa de Pós Graduação em Fitotecnia, UFV, Viçosa,1996.

SCHMILDT, O.; SCHMILDT, E. R.; AMARAL, J. A. T. do; MARTINS FILHO, S. Multiplicação de ramos de mamoeiro “Tainung 01” em diferentes níveis de sulfato de adenina. In MARTINS, D. dos S.; COSTA, A. N. da; COSTA, A. de F. S. da. (ed.). **Papaya Brasil: manejo, qualidade e mercado do mamão**. Vitória: Incaper, 2007. Cap. 20, 290-292p.

SOUSA, A. da S.; COSTA, M. A. P. de; SILVA NETO, H. P. da. Aclimatização. In SOUSA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (ed.). **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: EMBRAPA, 2006. Cap. 7, p. 131-140.

STOCK, L.; LOPES, S.J.; GARCIA, D.C.; ESTEFANEL, V. **Experimentação vegetal**. 2. ed. Santa Maria: UFSM, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TEO, C. K. H.; CHAN, L. K. The effects of agar content, nutrient concentration, genotype and light intensity on the in vitro rooting of papaya microcuttings. **Hort. Science**, v. 69, p. 73-267, 1994.

ZAIDAN, H. A. **Micropropagação e uso de marcadores moleculares na determinação do sexo do mamoeiro**. 2002, 154 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós Graduação em Agronomia, UNESP Jaboticabal, 2002.

10 - CONCLUSÕES GERAIS

Não existe ainda um protocolo definitivo para a micropropagação do mamoeiro. Os resultados obtidos por diversos autores nem sempre se repetem, devido a uma série de fatores, como o meio de cultura utilizado, diversidade do material genético, nutrição e idade da planta matriz e condições de incubação. Todavia, existe um conjunto de práticas que podem contribuir para que os fatores benéficos atuem em conjunto, dando um efeito aditivo. Nesse contexto, pode-se nortear por intermédio de diferentes protocolos visando a alcançar os resultados esperados. O meio de cultura utilizado deve ser adaptado ao material genético a ser multiplicado e ao sistema de micropropagação empregado.

Os cuidados necessários a serem tomados para a micropropagação do mamoeiro devem iniciar muito antes do cultivo *in vitro* propriamente dito. Práticas como adubação, aplicações de defensivos e reguladores de crescimento, ainda na planta matriz, não só contribuem como também podem determinar o sucesso dessa técnica.

Na inoculação de explantes de mamoeiro *Carica papaya*, o uso de rifampicina 300 mg L⁻¹ é eficiente para o controle de bactérias endofíticas em combinação com hipoclorito de sódio. Todavia o tempo de exposição ao hipoclorito de sódio deve ser sempre testado de modo a reduzir ao máximo a contaminação sem que haja perdas por fitotoxidez. Durante o estudo verificou-se que o melhor método de desinfestação é a exposição dos explantes em álcool 70% por 60 segundos, hipoclorito de sódio a 1% por 20 minutos, três lavagens em água destilada autoclavada, rifampicina 300 mg L⁻¹ em agitação por 24 horas a 100 rpm, hipoclorito de sódio, 0,6% por 15 minutos, lavados três vezes com água destilada e autoclavada.

A utilização do regulador de crescimento GA₃ (giberelina) no meio de cultura de micropropagação do mamoeiro é vantajosa, quando se pretende obter um número maior de microestacas com melhor padrão de desenvolvimento. Nesse caso, pode-se utilizar uma concentração mais baixa de giberelina (0,5 mg L⁻¹), por ser mais econômica. Apesar de ser uma prática mais trabalhosa, poderá ser mais eficiente com o desenvolvimento de sistemas de micropropagação que utilizem meios líquidos, pois não haverá a dificuldade de se adicionar o GA₃ no meio ainda quente, antes da solidificação. Entretanto, os brotos podem necessitar de um

período de indução em meio de cultura com maior concentração de auxina, de modo a estimular o enraizamento.

Existem vários fatores que influenciam o enraizamento *ex vitro*, alguns são favoráveis outros não. Cada um deles, isoladamente, pode causar pouco efeito, mas quando os fatores favoráveis atuam em conjunto, o processo ocorre de modo muito mais eficiente.

Microestacas de mamoeiro, quando transferidas no último subcultivo para meio de cultura com maior concentração de ANA apresentam rápido enraizamento e, conseqüentemente, ocorre uma rápida aclimatização das plantas.

A aplicação de ANA na base das estacas de plantas adultas de mamoeiro não apresenta resultados significativos, nas concentrações de 0 e 10 mg L⁻¹, para todos os meios de cultura anteriores testados, indicando que a planta não necessita desse regulador de crescimento para o enraizamento.

Outras práticas que demonstraram resultados positivos para o enraizamento *ex vitro* no presente trabalho são: a imersão da base das microestacas em solução contendo 0,006 mg L⁻¹ de ácido bórico e a aplicação de carvão de madeira moído na base das microestacas antes do plantio no substrato.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)