

## **ENRAIZAMENTO DE RAMOS DE MAMOEIRO (*Carica papaya* L.) OBTIDOS POR CULTIVO *IN VITRO* DE ÁPICES CAULINARES<sup>1</sup>**

Edilson Romais Schmildt<sup>2</sup>

Sílvio Lopes Teixeira<sup>3</sup>

Cosme Damião Cruz<sup>4</sup>

Flávio Alencar d'Araújo Couto<sup>5</sup>

Elizonete Ribeiro Garcia Lani<sup>5</sup>

### **1. INTRODUÇÃO**

A fase de enraizamento de ramos no processo micropropagativo foi conceituada como estágio III por Murashige, sucedendo aos estágios I e II, que se referem à introdução e multiplicação, respectivamente, de explantes *in vitro* (10). Este processo de enraizamento pode ser realizado na condição *in vitro* ou *ex vitro*. Nesta, poderia trazer alguns benefícios, como redução do custo da muda micropropagada (7, 9), possibilidade de contornar as contaminações por patógenos do solo durante o processo de aclimação (9) e formação de um sistema radicular mais completo e funcional, com baixa formação de calo, que, se presente em quantidades significativas, dificulta a conexão do sistema vascular entre caule e raiz

<sup>1</sup> Parte da tese apresentada pelo primeiro autor à UFV como um dos requisitos para a obtenção do título de *Magister Scientiae* em Fitotecnia.

Aceito para publicação em 05.02.1997.

<sup>2</sup> Departamento de Fitotecnia do Centro Agropecuário da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) - Caixa Postal 16, 29500-000 Alegre-ES.

<sup>3</sup> Laboratório de Recursos Genéticos da Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF) - 28015-620 Campos dos Goytacazes-RJ.

<sup>4</sup> Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa (UFV). - 36571-000 Viçosa-MG.

<sup>5</sup> Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV) - 36571-000 Viçosa-MG.

(4). Para o mamoeiro, no entanto, pelo enraizamento *in vitro* é difícil obter estes benefícios, porque na maioria das vezes há dificuldade para se alcançarem índices de enraizamento satisfatório (8, 15), e as raízes formadas podem ser grandes e desproporcionais ao tamanho dos ramos (12, 13), além de possuírem geotropismo negativo (1) e desconexão com o sistema vascular dos ramos, resultando, com isto, em alta mortalidade de plantas durante o processo de aclimação.

Neste experimento, procurou-se avaliar a resposta rizogênica *ex vitro* de ramos micropropagados de mamoeiro (*Carica papaya* L.), tipo Formosa, em comparação à resposta *in vitro* e também a sua sobrevivência após aclimação.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido em laboratório e em casa de vegetação pertencentes ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, no período de janeiro a março de 1993.

Ramos micropropagados de mamoeiro (*Carica papaya* L.), tipo Formosa, foram obtidos a partir de ápices caulinares de plantas com quatro meses de idade, em casa de vegetação, e multiplicados no laboratório de cultura de tecidos por quatro subcultivos em meio de cultura de MURASHIGE e SKOOG (11), com suplementos em mg/L: BAP (6-Benzilaminopurina) 0,45; ANA (ácido  $\alpha$ -naftalenoacético) 0,09; e sulfato de adenina 30. Parte dos ramos, em número de 60, foi padronizada em 1,5cm, com três folhas. Inicialmente os ramos foram submetidos ao cultivo *in vitro*, em meio semi-sólido (meio de indução), com sais de MURASHIGE e SKOOG (11) e complementos orgânicos em mg/L: sacarose 30.000; myo-inositol 100; tiamina-HCl 0,1; piridoxina-HCl 0,5; ácido nicotínico 0,5; e AIB (ácido 3-indolbutírico) 0,2. O meio com pH regulado em 5,7 foi padronizado a 20ml em tubos de ensaio de 25 x 150 mm e autoclavado a 121°C e pressão de 15 lib/pol<sup>2</sup>, durante 15 minutos. Os ramos foram mantidos em sala de cultura, sob lâmpadas fluorescentes fornecendo 22,8  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  de fluxos de fótons fotossintéticos e 16 horas de fotoperíodo com temperatura controlada em 27 $\pm$ 2°C. Passados cinco dias, os ramos foram separados em três grupos de 20 e submetidos aos seguintes tratamentos de enraizamento, por mais 34 dias: A - permanência em meio de indução *in vitro*; B - cultivo em mesmo tipo de meio, desprovido de AIB (meio de regeneração); e C - cultivo *ex vitro* em tubetes com vermiculita, em casa de vegetação. Para os tratamentos A e B, o ambiente de cultivo foi o mesmo da fase de

indução, e para o tratamento C, em casa de vegetação, com as seguintes condições: mantidos em suporte de isopor dentro de estufim, onde permaneceu constantemente uma lâmina d'água de 5cm, permitindo a obtenção de  $80 \pm 10\%$  de umidade relativa e passagem de 40% de luz natural, segundo DREW (2), além de temperatura em  $27 \pm 5^\circ\text{C}$ . Cada tubete recebeu diariamente 30ml de água; aos 15 dias, realizou-se adubação, com aplicação em cada tubete de 20ml de solução contendo sais de MURASHIGE e SKOOG (11).

Aos 39 dias de cultivo, foram feitas as avaliações da porcentagem de ramos enraizadas, do crescimento dos ramos enraizados, do número e comprimento das raízes adventícias e do comprimento da maior folha em cada ramo enraizado. Submetendo-se os ramos enraizados ao processo de aclimatação, segundo DREW (2), após cinco semanas, avaliou-se a sobrevivência dos mesmos. Todas as variáveis tiveram suas médias analisadas estatisticamente pelo teste t ( $P < 0,05$  ou  $P < 0,01$ ) pela comparação de média duas a duas, segundo GOMES (3).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores percentuais médios de enraizamento alcançados neste experimento foram 45, 60 e 50%, respectivamente para o enraizamento *in vitro* em meio de indução, enraizamento *in vitro* em meio de regeneração e enraizamento *ex vitro* (Quadro 1), percentuais estes que não diferiram estatisticamente pelo teste t ( $P > 0,05$ ).

A sobrevivência dos ramos enraizados após a aclimatação foi de 100% para aqueles cujas raízes foram regeneradas *ex vitro*, diferente estatisticamente da porcentagem dos ramos em que o enraizamento se verificou totalmente *in vitro* (Quadro 1). KATAOKA e INOUE (5) alcançaram, após aclimatação, 90% de sobrevivência de ramos enraizados de mamoeiro obtidos *ex vitro*.

O crescimento médio dos ramos e o número médio de raízes por ramo apresentaram diferenças estatísticas ( $p < 0,05$  e  $p < 0,01$ , respectivamente) apenas entre aqueles enraizados *in vitro* em meio de indução e aqueles com indução *in vitro* e regeneração *ex vitro* (Quadro 2). Quanto ao comprimento médio das raízes e da maior folha, não houve diferença estatística entre os dois grupos de ramos enraizados *in vitro*, mas ocorreu diferença entre estes e aqueles com indução *in vitro* e regeneração *ex vitro* ( $p < 0,01$ ) (Quadro 2).

Com relação ao comprimento de raízes, observa-se uma diferença de aproximadamente 9 cm entre as raízes dos ramos enraizados *ex vitro* (comprimento médio de 11 cm) e as raízes dos ramos que permaneceram

QUADRO 1 - Porcentagem de enraizamento e de sobrevivência após aclimação dos ramos micropropagados de mamoeiro, tipo Formosa, submetidos a três metodologias de enraizamento

Enraizamento	Ramos enraizados*	Sobrevivência após aclimação**
	----- % -----	----- % -----
<i>In vitro</i> : meio de indução	45,00 a	44,44 a
<i>In vitro</i> : meio de regeneração	60,00 a	41,67 a
Indução <i>in vitro</i> /regeneração <i>ex vitro</i>	50,00 a	100,00 b

\* Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste t ( $P < 0,05$ ).

\*\*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste t ( $P < 0,01$ ).

*in vitro* durante todo o período de enraizamento (comprimento médio de 2cm). Segundo GRATTAPAGLIA e MACHADO (4), além da melhor formação do sistema radicular *ex vitro*, os ramos deste sistema tendem a ser mais funcionais do que os obtidos *in vitro*.

Com exceção do enraizamento, todas as variáveis avaliadas apresentaram melhor resposta para os ramos submetidos à metodologia de indução *in vitro* e regeneração *ex vitro*, cujas razões, acredita-se, estejam relacionadas com o ambiente confinado da metodologia *in vitro* (tubo de ensaio) e com a reatividade do sistema fotossintético nas folhas dos ramos na metodologia *ex vitro*. Segundo SUTTER e LANGHANS (14), as folhas dos ramos crescidos *in vitro* possuem aparelho fotossintético ineficiente, a começar pelos estômatos, que são em número excessivo por superfície de área e não se fecham. KYTE (6) reforça que a falta de cera epicuticular é outro grande obstáculo para o processo de aclimação. GRATTAPAGLIA e MACHADO (4) ressaltam ainda que, quando as raízes são obtidas *in vitro*, a conexão entre o sistema vascular do caule e das raízes é precária para permitir um fluxo transpiratório adequado no processo de aclimação.

QUADRO 2 - Crescimento de ramos, número e comprimento de raízes e comprimento da maior folha em ramos micropropagados de mamoeiro, tipo Formosa, submetidos a três metodologias de enraizamento

Enraizamento	Raízes			
	Crescimento de ramos*	Número/ramo**	Comprimento médio**	Comprimento médio da maior folha**
	---- cm <sup>1</sup> ----		---- cm ----	---- cm ----
<i>In vitro</i> : meio de indução	1,09 a	1,35 a	1,88 a	1,67 a
<i>In vitro</i> : meio de regeneração	1,27 ab	2,25 ab	1,98 a	1,79 a
Indução <i>in vitro</i> / regeneração <i>ex vitro</i>	1,40 b	3,92 b	11,25 b	2,49 b

<sup>1</sup> Considerou-se como crescimento de ramos a diferença entre a média do comprimento ao final dos 39 dias e o comprimento do início do experimento.

\* Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste t ( $P < 0,05$ ).

\*\* Médias seguidas de mesma letra, na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste t ( $P < 0,01$ ).

#### 4. RESUMO

Foram avaliados a porcentagem de enraizamento, o crescimento dos ramos enraizados, o número e comprimento médio das raízes e o comprimento médio da maior folha em ramos micropropagados de mamoeiro (*Carica papaya* L.) submetidos a três tratamentos de enraizamento: A - permanência por 39 dias em meio de indução contendo 0,2 mg/L de AIB; B - permanência por cinco dias em meio de indução seguido de 34 dias em meio de regeneração sem reguladores de crescimento; e C - permanência por cinco dias em meio de indução seguido de 34 dias em tubetes com vermiculita em casa de vegetação. Após o período de enraizamento, os ramos enraizados foram submetidos à

aclimatação por cinco semanas, avaliando-se, ao final, a sua porcentagem de sobrevivência.

A porcentagem de enraizamento não foi significativa entre os três tratamentos, e as demais avaliações apresentaram médias estatisticamente superiores para os ramos do tratamento *ex vitro*.

## 5. SUMMARY

### (ROOTING OF MICROPROPAGATED PAPAYA SHOOTS (*Carica papaya* L.))

This research was carried out under laboratory and greenhouse conditions in order to observe the influence of both environments on the rooting and acclimation of micropropagated papaya shoots (*Carica papaya* L.). The shoots were cultured for 5 days *in vitro*, in nutrient agar containing 0.2 mg/l IBA and then divided into three groups: one of them remained in the same medium; the second group was transferred to new nutrient agar without growth regulators; and a third group was transferred to the greenhouse, in containers with vermiculite. Thirty four days later all groups showed about 50% rooting. The shoots rooted under greenhouse conditions showed 100% survival and the best performance in length of shoots, number and length of roots and length of leaves.

## 6. LITERATURA CITADA

1. CARRER, H. *Controle da morfogênese em mamão (Carica papaya L.) in vitro*. Piracicaba, ESALQ, 1988. 138p. (Tese M.S.).
2. DREW, R.A. Rapid clonal propagation of papaya *in vitro* from mature field-grown trees. *HortScience*, 23:609-611, 1988.
3. GOMES, F.P. *Iniciação à estatística*. 6ª ed. São Paulo, Nobel, 1978. 205p.
4. GRATTAPAGLIA, D. & MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A. C. & CALDAS, L. S. (eds.). *Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas*. Brasília, ABCTP, EMBRAPA - CNPH, 1990. p.99-169.
5. KATAOKA, J. & INOUE, H. Rooting of tissue cultured papaya shoots under *ex vitro* conditions. *Japanese Journal of Tropical Agriculture*, 35:127-129, 1991.
6. KYTE, L. *Plants from test tubes; an introduction to micropropagation*. 2ª ed. Oregon, Timber Press, 1987. 169p.
7. LITZ, R.E. Papaya. In: SHARP, W. R.; EVANS, D.A.; AMMIRATO, P. V. & YAMADA, Y. (eds.). *Handbook of plant cell culture*. New York, MacMillan, 1984. p. 349-368.
8. LITZ, R.E. & CONOVER, R.A. Effect of sex type, season, and other factors on *in vitro* establishment and culture of *Carica papaya* L. explants. *Journal of the American of Society of Horticulture Science* 106:792-794, 1981.
9. MAENE, L.M. & DEBERGH, P.C. Rooting of tissue cultured plants under *in vivo* conditions. *Acta Horticulture*, 131:201-208, 1983.

10. MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue culture. *Annual Review of Plant Physiology*, 25:135-166, 1974.
11. MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497, 1962.
12. RAJEEVAN, M.S. & PANDEY, R.M. Propagation of papaya through tissue culture. *Acta Horticulture*, 131:131-139, 1983.
13. RAJEEVAN, M.S. & PANDEY, R.M. Lateral bud culture of papaya (*Carica papaya* L.) for clonal propagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 6:181-188, 1986.
14. SUTTER, E. & LANGHANS, R.W. Formation of epicuticular wax and its effect on water loss in cabbage plants regenerated from shoot-tip culture. *Canadian Journal of Botany*, 60:2896-2902, 1982.
15. WINNAAR, W. Clonal propagation of papaya *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 12:305-310, 1988.