

# INDUÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE CALOS EM BROTAÇÕES LATERAIS DO MAMOEIRO (*Carica papaya* L.)

**Leandro Mendel da Cruz<sup>1</sup>, Wanderson Souza Rabello<sup>2</sup>, Guilherme Bessa Miranda<sup>3</sup>, Gustavo Dias de Almeida<sup>4</sup>, Edílson Romais Schmidt<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Graduando / UFES/Departamento de Produção Vegetal, Alegre-ES, leandro.mendel@terra.com.br

<sup>2-4</sup>Graduando / UFES/Departamento de Produção Vegetal, Alegre-ES,

<sup>5</sup>Professor Orientador / Universidade Federal do Espírito Santo, Alto universitário s/n, CEP 29500-000, Alegre-ES.

**Resumo-** Este trabalho teve por objetivo, avaliar o efeito de diferentes concentrações de citocininas e auxinas, na indução e no desenvolvimento de calos friáveis a partir de brotações laterais do mamoeiro (*Carica papaya* L. cv. Tainung n.1). Os fitorreguladores usados foram as citocininas Furfurilaminopurina (cinetina) e Benzilaminopurina (BAP), e a auxina foi o ácido naftalenoacético (ANA). Estes foram utilizados nas seguintes concentrações: 5,38 e 10,36 mg.L<sup>-1</sup> de cinetina; 0,45 e 45 mg.L<sup>-1</sup> de BAP; e 0,093; 0,93 e 1,862 mg.L<sup>-1</sup>. Avaliou-se a produção de calos em peso (g), sendo observado que os tratamentos com relação citocinina/ana igual a 58/1 e 4,8/1 mg/L, apresentaram maior tendência de produção de calos.

**Palavras-chave:** Cultura de tecidos, calos, mamão, *Carica papaya* L.

**Área do Conhecimento:** Ciências Agrárias.

## Introdução

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma das fruteiras mais cultivadas e consumidas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, sendo o Brasil o maior produtor com 1,71 milhões de toneladas (AGRIANUAL, 2006). Os cultivares de mamoeiro mais utilizadas no país são a Sunrise Solo, Improved Sunrise Solo line 72/12 e o híbrido Tainung n.1. As sementes desse híbrido são importadas de Taiwan.

Diversas técnicas de biotecnologia têm sido empregadas nas últimas duas décadas em apoio a programas de melhoramento do mamoeiro, tais como o resgate de embriões, cultura de anteras, isolamento e cultivo de protoplastos, produção de sementes artificiais, micropropagação, marcadores moleculares e transformação genética (Oliveira et al., 1996).

A micropropagação pode ser conduzida de diferentes maneiras, sendo a multiplicação mediante indução de gemas adventícias por organogênese indireta, uma delas. Nesta o processo de regeneração de gemas é precedido pela formação de calo, que pode ser utilizado para se estudar o desenvolvimento celular, explorar produtos provenientes do metabolismo primário e secundário, obter suspensão celular e propagação via formação de gemas ou embriões somáticos (LANDA et al., 2000). Porém, uma das grandes limitações da cultura de tecidos consiste na necessidade de um exato ajuste no balanço de nutrientes, reguladores de crescimento e condições de cultura em função de cada cultivar e do estado fisiológico das plantas (Arora & Singh, 1978).

Este trabalho teve por objetivo, avaliar o efeito de diferentes concentrações de citocininas e auxinas, na indução e no desenvolvimento de calos friáveis a partir de brotações laterais do mamoeiro (*Carica papaya* L. cv. Tainung n.1), visando a futuro, posterior regeneração de gemas adventícias.

## Metodologia

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo.

Utilizou-se explantes de brotações laterais do mamoeiro 'Tainung n.1', obtidos de plantas oriundas de Casa de Vegetação, com aproximadamente 5 mm de comprimento. O material foi submetido à desinfestação com solução de álcool 70% por um minuto, e hipoclorito de sódio com 2% de cloro ativo por 15 minutos, sendo, em seguida, lavados com água destilada esterilizada por três vezes antes da inoculação dos explantes em meio de cultura. Os explantes foram cultivados em tubos de ensaio de vidro (25 x 150 mm), contendo 10, 15 e 30 ml de meio de cultura para as fases de cultivo, subcultivo e 2° subcultivo, respectivamente. Após a inoculação os tubos de ensaio foram mantidos em sala de crescimento sob temperatura de 26°C±1, na presença de luz, sendo o fotoperíodo de 16 horas com irradiância de 22,8  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Foi utilizado o meio de cultura MS conforme Murashige & Skoog, (1962), sendo suplementado com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 100 mg.L<sup>-1</sup> de inositol e 7 g.L<sup>-1</sup> de ágar, com pH 5,7 antes da autoclavagem a 121°C por 15 min.

Os fitorreguladores usados foram as citocininas Furfurilaminopurina (cinetina) e Benzilaminopurina (BAP), e a auxina foi o ácido naftalenoacético (ANA). Estes foram utilizados nas seguintes concentrações: 5,38 e 10,36 mg.L<sup>-1</sup> de cinetina; 0,45 e 45 mg.L<sup>-1</sup> de BAP; e 0,093; 0,93 e 1,862 mg.L<sup>-1</sup>. A Tabela 3 apresenta todos os tratamentos utilizados, com as relações citocinina/ana utilizadas.

Tabela 1 - Concentrações de citocininas e auxinas.

| TRAT | Citocinina (mg/L) | ANA (mg/L) | CITOCININA/ANA |
|------|-------------------|------------|----------------|
| 1    | 5,38 cinetina     | 0.93       | 5,8/1          |
| 2    | 5,38 cinetina     | 0.093      | 58/1           |
| 3    | 10,76 cinetina    | 1.862      | 5,8/1          |
| 4    | 0,45 BAP          | 0.093      | 4,8/1          |
| 5    | 4,5 BAP           | 0.093      | 48/1           |
| 6    | 4,5 BAP           | 0.93       | 4,8/1          |

Foram avaliadas as produções de calos friáveis e partes aéreas, ambos em peso fresco, em diferentes concentrações e relações de auxinas e citocininas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições, cada uma composta de cinco tubos de ensaio, sendo seis tratamentos. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey (5%).

## Resultados

O resumo das análises de variância para produção de calos na fase de cultivo e subcultivo encontra-se nas Tabelas 2 e 3 respectivamente. Verifica-se que houve diferença estatística significativa ao nível de 5% pelo teste F para produção de calos nas fases de subcultivo (Tabela 3). Porém a produção de calos na fase de cultivo não apresentou diferença significativa (Tabela 2).

Tabela 2 - Resumo da análise de variância para a produção de calo no cultivo.

| FV                | GL | SQ    | QM    | F       |
|-------------------|----|-------|-------|---------|
| <b>Tratamento</b> | 5  | 1,658 | 0,331 | 2,060** |
| <b>Resíduo</b>    | 18 | 2,899 | 0,160 |         |
| <b>Total</b>      | 23 | 4,557 |       |         |

\*\* Não significativo para o teste de F a 5% de Probabilidade.

A formação de calos ocorreu em todos os tratamentos, independente da relação citocinina/ana utilizada. Durante a fase de subcultivo, observou-se que os tratamentos com relação citocinina/ana igual a 58/1 e 4,8/1 mg/L, apresentaram maior tendência de produção de calos (Tabela 4).

Tabela 3 - Resumo da análise de variância para produção de calo no subcultivo.

| FV                | GL | SQ     | QM    | F      |
|-------------------|----|--------|-------|--------|
| <b>Tratamento</b> | 5  | 27,509 | 5,502 | 8,521* |
| <b>Resíduo</b>    | 18 | 11,622 | 0,645 |        |
| <b>Total</b>      | 23 | 39,131 |       |        |

\* Significativo para o teste de F a 5% de Probabilidade.

Para a produção de calos, todos os tratamentos que continham 5,38 mg/L de Cinetina foram iguais entre si. O mesmo ocorreu quando se utilizou 4,5 mg/L de BAP. Entretanto os tratamentos que continham 0,093 mg/L de ANA e como citocinina o BAP diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (Tabela 4).

Tabela 4 - Avaliação da produção média de calo (PC) por tratamento, pelo teste de Tukey a 5%.

| Relação Citocinina/ANA (mg/L) | PC <sup>1</sup> (g) |
|-------------------------------|---------------------|
| 4,5 BAP/0,093                 | 0.174 a             |
| 10,76 cinetina/1,862          | 0.309 a             |
| 4,5 BAP/0,93                  | 0.504 ab            |
| 5,38 cinetina/0,93            | 0.991 ab            |
| 5,38 cinetina/0,093           | 2.144 bc            |
| 0,45 BAP/0,093                | 3.100 c             |

<sup>1</sup>Valores seguidos da mesma letra, não diferem significativamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

## Discussão

A influencia da utilização de reguladores de crescimento no desenvolvimento de calos em tecidos vegetais é relatada por diversos autores. Segundo, Vietez e San José (1996) para a indução da formação de calos, muitas vezes é necessário o suprimento exógeno de reguladores de crescimento, sendo que a necessidade do regulador, no que diz respeito ao tipo, concentração, relação auxina/citocinina, depende do genótipo e conteúdo endógeno de hormônio. Oliveira et al. (2006) relata que o uso de citocininas em combinação com auxinas, na indução de calos e formação de brotos, foi aplicado com sucesso no protocolo desenvolvido por Geetha et al. (1997), para regeneração de plantas de *Vigna mungo*, a partir de explantes de hipocótilo, epicótilo, gema axilar, nós cotiledonares e folhas imaturas.

No presente trabalho observou-se a formação de calos em todos os tratamentos. Entretanto, Azevedo (2003) trabalhando com copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.), somente obteve calogênese utilizando 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP em meio MS na presença de luz.

A maior produção de calos na fase de cultivo foi obtida quando se utilizou 58/1 e 4,8/1 mg/L de citocinina/ana. Rios (2004) trabalhando com Micropropagação de *Gypsophila paniculata* obteve calos com maior massa utilizando 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de ANA com 5,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, sendo este tratamento significativamente superior aos demais, dentro da mesma concentração de cada regulador de crescimento. Este mesmo autor observou que concentrações superiores a 5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP em combinação com 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de ANA foram prejudiciais a formação de calos, enquanto concentrações inferiores de ANA apresentaram uma baixa resposta morfogênica. Estes resultados estão de acordo com os de Salman (2002) que obteve 100% de calos desenvolvidos a partir de segmentos foliares de *Gypsophila paniculata* incubados em meio suplementado com 2,4- D e BAP. Em seu estudo, a maior taxa de calos foi obtida mantendo-se a relação auxina/citocinina igual a 0,2.

### Conclusão

Nas condições deste experimento, podemos concluir que, menores concentrações de auxinas (ANA) induzem a maior produção de calo.

Relação citocinina/ana igual a 58/1 e 4,8/1 mg/L, apresentaram maior tendência de produção de calos.

### Referências

- AGRICULTURAL 2007: **anúário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2006. p.363-369.
- ARORA, I.K.; SINGH, R.N. Growth hormones and *in vitro* callus formation of papaya. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.8, p.357-361, 1978.
- AZEVEDO, K. de S. Indução e análises bioquímicas de calo e aspectos da anatomia foliar de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.). 2003. 86 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.
- GEETHA, N.; VENKATACHALAM, P.; RAO, G. R. In vitro plant regeneration from different seedling explants of blackgram [*Vigna mungo* (L.) Hepper] via organogenesis. **Breeding Science**, v.47, n.4, p.311-315, 1997.
- LANDA, F. S. L. et al. Indução in vitro de calos em explantes foliares de pequi (Caryocar brasiliense Camb.). **Ciência e Agrotecnologia**, v.24, p.56-63, 2000.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.
- OLIVEIRA, P.B. et al. Estudo da estabilidade do néctar de acerola. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.16, n.3, p.228-232, 1996.
- OLIVERIA, V. P; BENBADIS, A. K; CARVALHO, A. C. P. P. **Avaliação da regeneração in vitro de explantes de caupi e soja**. Rev. Ciênc. Agron., v.37, n.2, p.153-159, 2006.
- RIOS, J. F. Micropropagação de *Gypsophila Paniculata* pela cultura de Segmentos Nodais e Calogênese a partir de Segmentos Foliares. Curitiba, 2004, 60p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal do Paraná.
- SALMAN, M.N. Establishment of callus and suspension cultures from *Gypsophila paniculata* leaf segments and study of the attachment of host cells by *Erwinia herbicola* pv. *Gypsophilae*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.69, p.189-196, 2002.
- VIETEZ, A.M.; SAN JOSÉ, M.C. Adventitious shoot regeneration from *Fagus sylvatica* leaf explants *in vitro*. **In Vitro Cellular Development Biology**, Columbia, v.32, p.140-147, July./Sept.1996.