

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

DESINFESTAÇÃO DE ÁPICES CAULINARES DE QUATRO CULTIVARES DE *Carica papaya* L.

Eduardo Santos Cade¹, Tamyrís de Mello²,
João Pedro Vieira Fraga de Assis², Mariana Ribeiro de Almeida¹, Simone
Wellita Simão de Carvalho¹, Edilson Romais Schmildt³, Rodrigo Sobreira
Alexandre²

¹Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Alto
Universitário, s/nº, Guararema, 29500-000, Alegre - ES, Brasil, eduardo.cade@edu.ufes.br,
mariribeiro11@hotmail.com, simonewellita@gmail.com

²Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Agrárias e Engenharias/Departamento de
Ciências Florestais e da Madeira, Avenida Governador Lindemberg, 316, Centro, 29550-000,
Jerônimo Monteiro - ES, Brasil, tamyrisdemello@gmail.com, joaopedrov80@gmail.com,
rodrigossobreiraalexandre@gmail.com

³Universidade Federal do Espírito Santo/Centro Universitário Norte Fluminense/Departamento de
Ciências Agrárias e Biológicas, Rodovia BR 101 Norte, Km 60, litorâneo, 29932-540, São Mateus -
ES, Brasil. e.romais.s@gmail.com

Resumo

O mamão é vital na fruticultura comercial do Brasil, com destaque econômico e potencial medicinal. A multiplicação *in vitro* foi explorada devido aos desafios agrônômicos e genéticos da manipulação tradicional. Objetivou-se com esse trabalho desenvolver protocolo de desinfestação eficiente para ápices caulinares de plantas adultas para micropropagação dos cultivares de mamoeiro Aliança, THB, Calimosa e T2. O estudo foi dividido em dois experimentos, o primeiro com dez tratamentos, em que ápices caulinares de plantas adultas foram submetidos aos tratamentos de desinfestação e no segundo testou-se quatro cultivares no tratamento de desinfestação mais eficiente obtido no primeiro experimento. No experimento 1, o pré-tratamento com Across[®] 2 mL L⁻¹ foi eficiente no controle de fungos e bactérias e, oxidação de ápices caulinares. No experimento 2, a cultivar Aliança obteve a menor média de contaminação (23%), mas com alta taxa de oxidação. Na cultivar Calimosa, a taxa de oxidação foi nula. Destacou-se que o método de pré-tratamento foi viável para a desinfestação *in vitro* de ápices caulinares, embora tenha variado entre as cultivares.

Palavras-chave: Cultivo *in vitro*. Mamoeiro. Contaminação. Oxidação.

Área do Conhecimento: Engenharia Agrônoma – Agronomia.

Introdução

O mamão é fruto do mamoeiro, espécie *Carica papaya* Linnaeus (CHÁVEZ-PESQUEIRA; NÚÑEZ-FARFÁN, 2017). No Brasil, o mamoeiro é uma das culturas mais importantes da fruticultura comercial, destacando-se como um dos principais produtores e exportadores mundiais do fruto (EMBRAPA, 2019; FAOSTAT, 2021; IBGE, 2021; TRIDGE, 2021).

O interesse sobre a produção nacional e mundial de mamão tem se destacado para além do setor agroindustrial alimentício, devido às possibilidades científicas de aplicações farmacológicas e medicinais de compostos fitoquímicos obtidos a partir da planta e do fruto (VENTURINI et al., 2012; BOSHRA; TAJUL, 2013; DIAS et al., 2015; BARROSO et al., 2016; PRASETYA et al., 2018; CARVALHO et al., 2020).

A propagação do mamoeiro em plantios comerciais tem sido realizada por meio de sementes, porém induz à ocorrência de variações genéticas indesejáveis nas suas descendências devido à polinização livre (DREW, 1987; COSTA; PACOVA, 2003). Outro problema verificado é a necessidade de se colocar de duas a três mudas por cova, tendo que fazer o desbaste das plantas após o início do florescimento,

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

em torno de três a quatro meses após o plantio, quando se torna possível a identificação do sexo das plantas, deixando uma planta por cova, preferencialmente plantas hermafroditas, devido ao fruto desta apresentar bom padrão comercial (COSTA et al., 2003).

Considerando os problemas da cultura, a multiplicação *in vitro* seria alternativa econômica para a propagação do mamoeiro. Metodologias têm sido descritas, para a cultura de ápices caulinares e gemas laterais de plantas adultas (WINNAAR, 1988; REUVENI; SHLESINGER; LAVI, 1990; DREW, 1992).

Objetivou-se com esse trabalho desenvolver protocolo de desinfestação eficiente para ápices caulinares de plantas adultas para a micropropagação do mamoeiro cultivares Aliança, THB, Calimosa e T2.

Metodologia

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV), situado no Departamento de Ciências Florestais e da Madeira, que faz parte do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES), Jerônimo Monteiro, Espírito Santo.

Foram utilizados ápices caulinares provenientes de plantas adultas da cultivar Aliança (grupo solo) no experimento 1 e no experimento 2: Calimosa (grupo formosa), Aliança (grupo solo), THB (grupo solo), e T2 (grupo formosa), cultivadas em ambiente protegido, na casa de vegetação da UFES, Jerônimo Monteiro.

As plantas adultas de mamoeiro, das quais os explantes foram extraídos, foram submetidas ao processo de germinação no LCTV. Elas foram semeadas em papel germitest e mantidas sob condições controladas em uma incubadora de demanda bioquímica de oxigênio (BOD), com temperatura constante de 20°C a 30°C, por um período de 60 dias. Esse período de incubação preparou as mudas para posterior transplante na casa de cultivo. Nesse ambiente protegido, as mudas foram plantadas para bombonas, contendo substrato comercial e irrigadas manualmente até alcançarem a fase de florescimento. Em seguida, foi possível fazer a sexagem, selecionando apenas as plantas hermafroditas para corte apical induzindo o crescimento de brotos apicais sendo o material de interesse para o experimento. Esses ápices caulinares foram coletados e colocados em sacola plástica e encaminhados para o LCTV, onde foram lavados em água corrente e detergente neutro e em seguida lavados com água destilada e transferidos para os respectivos frascos (Figura 1).

Figura 1 – (A) Ápices caulinares de mamoeiro das cultivares Aliança e T2, e (B) cultivares THB e Calimosa, respectivamente.



A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições



Na câmara de fluxo laminar, a desinfestação foi feita com a imersão dos ápices caulinares por 1 min em álcool 70%, 20 min em hipoclorito de sódio (2,5% de NaClO ativo, Candura®), seguido de triplice lavagem em água destilada e autoclavada e, 8 h em cloridrato de ciprofloxacino 3 g L⁻¹, em agitação constante. O estudo foi dividido em dois experimentos, o primeiro com dez tratamentos (T), nos quais, T1 e T2 passaram por pré-tratamento com pulverização das plantas com Across® 2 mL L⁻¹, vedadas com sacola plástica e mantidas por 24 horas antes da retirada dos explantes. Os tratamentos foram: T1. pré tratamento + 30 min em Across 2 mL L⁻¹; T2. Pré-tratamento + 10 min em H₂O₂ 40V + 30 min em Across 2 mL L⁻¹; T3. 30 min em Across 2 mL L⁻¹; T4. 10 min em H₂O₂ 40V + 30 min em Across 2 mL L⁻¹; T5. 30 min em (Priori 2 mL L⁻¹ + Cercobin 30 mL L⁻¹ + Isatolonil 3 mL L⁻¹); T6. 10 min em H₂O₂ 40V + 30 min em (Priori 2 mL L⁻¹ + Cercobin 30 mL L⁻¹ + Isatolonil 3 mL L⁻¹); T7. 10 min H₂O₂ 40V + 30 min em Across 6 mL L⁻¹; T8. 30 min em Across 6 mL/L; T9. 20 min em NaOCl 2,5 %; e T10. 10 min em NaOCl 2,5 % + 10 min em H₂O₂ 40V + 10 minutos em Across 2 mL L⁻¹. Todos os tratamentos mantiveram-se com resíduo. O segundo experimento, foi feito por meio do mesmo processo de desinfestação descrito anteriormente para T1 do experimento 1, porém, aplicado em quatro cultivares distintas: Calimosa (grupo formosa), Aliança (grupo solo), THB (grupo solo), e T2 (grupo formosa).

Após a desinfestação, o material foi transferido para tubos de ensaio contendo 5 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) (Sigma-Aldrich®), ao qual foram adicionados 30 g L⁻¹ de sacarose (Dinâmica®), 0,1 g L⁻¹ de mio-inositol (Sigma-Aldrich®), 5,5 g L⁻¹ de ágar (Kasvi®) e o pH ajustado para 5,7 ± 0,1. Em seguida, os tubos com os meios de cultura foram esterilizados em autoclave a 121 °C e 1,5 atm por 20 minutos, antes da transferência do material vegetal. Os tubos de ensaio com os explantes foram mantidos em uma sala de crescimento com intensidade luminosa de 60 µmol m⁻² s⁻¹, fotoperíodo de 8/16 horas e temperatura de 27 ± 2 °C.

Após 21 dias, registrou-se a quantidade de explantes afetados por contaminação e oxidação, procedeu-se ao cálculo da taxa de contaminação e oxidação identificando assim o tratamento mais eficaz. Os experimentos foram montados em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de dez tubos cada, totalizando 40 tubos/explante por tratamento. Os dados seguem distribuição normal pelo teste de Lilliefors e posteriormente submetidos a análise de variância e teste de Tukey ($p < 0,05$), com auxílio do software R (R CORE TEAM, 2023).

Resultados

Com base nas análises feitas no experimento 1, o T1 e T2, obtiveram 20 e 10% de contaminação bacteriana, respectivamente. Os demais tratamentos não apresentaram sinais de contaminação por bactéria (Tabela 1). No entanto, T1 e T2 não apresentaram sinais de contaminação fúngica, diferenciando estatisticamente dos demais. A taxa de oxidação do T1, T2, T3, T5, T6 e T8 foi nula, e T9 foi significativamente maior que as demais (80%) (Tabela 1).

Tabela 1. Porcentagem de contaminação por bactérias e fungos e, de oxidação de ápices caulinares da cultivar de mamoeiro Aliança

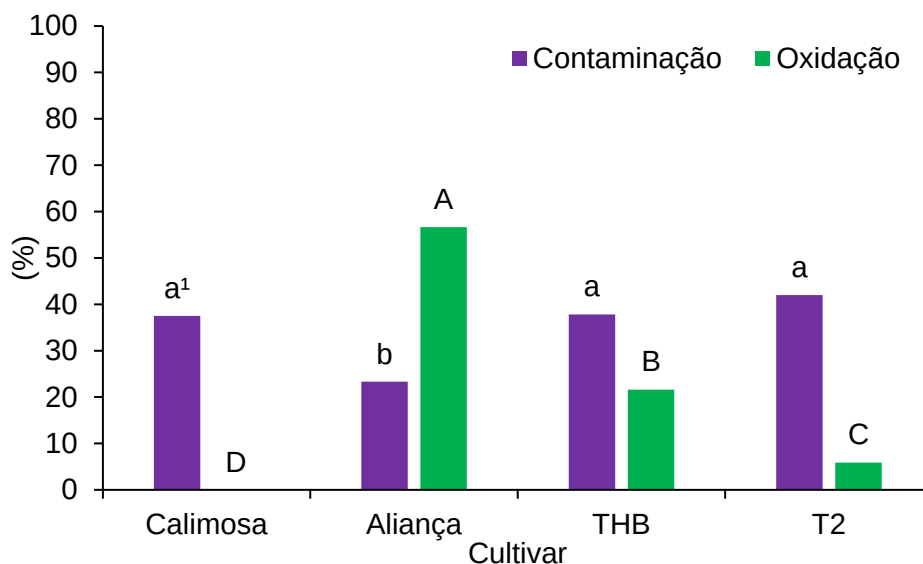
A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Tratamento	Bactéria (%)	Fungo (%)	Oxidação (%)
T1 Pré-tratamento + Across 2 mL L ⁻¹	20,00 a ¹	0,00 h	0,00 e
T2 Pré-tratamento + H ₂ O ₂ 40V + Across 2 mL L ⁻¹	10,00 b	0,00 h	0,00 e
T3 Across 2 mL L ⁻¹	0,00 c	50,00 c	0,00 e
T4 H ₂ O ₂ 40V + Across 2 mL L ⁻¹	0,00 c	18,18 f	36,36 b
T5 Priori 2 mL L ⁻¹ + Cercobin 30 mL L ⁻¹ + Isatolonil 3 mL L ⁻¹	0,00 c	100 a	0,00 e
T6 H ₂ O ₂ 40V + Priori 2 mL L ⁻¹ + Cercobin 30 mL L ⁻¹ + Isatolonil 3 mL L ⁻¹	0,00 c	100 a	0,00 e
T7 H ₂ O ₂ 40V + Across 6 mL L ⁻¹	0,00 c	36,36 e	18,18 c
T8 Across 6 mL L ⁻¹	0,00 c	55,55 b	0,00 e
T9 NaOCl 2,5 %	0,00 c	10,00 g	80,00 a
T10 NaOCl 2,5 % + H ₂ O ₂ 40V + Across 2 mL L ⁻¹	0,00 c	40,00 d	10,00 d

¹Médias não seguidas pela mesma letra na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Fonte: Os autores.

Com base nas análises feitas no experimento 2, a taxa de contaminação foi menor na cultivar Aliança (23%), diferenciando estatisticamente das demais cultivares testadas, que obtiveram taxa de contaminação próximo de 40% (Figura 2). A taxa de oxidação foi nula nos explantes da cultivar Calimosa (Figura 3), diferenciando estatisticamente das demais cultivares, que obtiveram 5% de oxidação no T2, 20% no THB e 55% no Aliança (Figura 2).

Figura 2. Porcentagem de contaminação e oxidação em ápices caulinares das diferentes quatro cultivares de mamoeiro.



¹Médias não seguidas pela mesma letra diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Fonte: Os autores.

Figura 3 – Ápice caulinar de mamoeiro, cultivar Calimosa, sem contaminação e oxidação, após 21 dias de estabelecimento.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições



Barra de escala: 1 cm. Fonte: Os autores.

Discussão

Com base nas explicações derivadas do Experimento 1, recomendou-se claramente que os métodos de pré-tratamento adotados nos grupos T1 e T2 demonstraram ser eficazes na prevenção da contaminação fúngica nos ápices caulinares das plantas de mamoeiro. Em contrapartida, os grupos T5 e T6, nos quais foram utilizados os fungicidas Cercobin, Piori e Isatolonil, não apresentaram resultados tão promissores em termos de controle de contaminação.

Notavelmente, os explantes submetidos aos tratamentos T1 e T2 exibiram taxas benéficas inferiores de contaminação, registrando apenas 20% e 10% de índices, respectivamente. Isso contrasta com os índices de contaminação de 24% e 28% observados em um estudo anterior conduzido por Vidal em 2015, embora tenha utilizado explantes de uma cultivar diferente (Tainung 01) e empregou fungicidas distintos, como Rifampicina e Agrimicina.

Essas descobertas sugerem que a escolha específica do tratamento e dos agentes antifúngicos desempenha um papel crítico no sucesso da descontaminação dos explantes de mamoeiro, com implicações significativas para futuras estratégias de micropropagação.

No experimento 2, o método utilizado proporcionou efeito significativo para contaminação entre as cultivares, com Calimosa, THB e T2 diferenciando-se da cultivar Aliança, que estatisticamente apresentou a menor taxa de contaminação, porém, com maior oxidação, que pode ser consequência de problemas no processo de cultivo, danos mecânicos durante a condução ou sensibilidade do genótipo em específico. Para reduzir a taxa de explantes oxidados, pode ser empregadas medidas como o uso de técnicas assépticas menos rigorosas, emprego de antioxidantes no meio de cultura e otimização das condições de cultivo.

Conclusão

No experimento 1, o pré-tratamento com Across® 2 mL L⁻¹ foi eficaz no controle de fungos e bactérias e oxidação no cultivo *in vitro* de ápices caulinares de plantas adultas de mamoeiro. No experimento 2, a cultivar Aliança obteve a menor média de contaminação (23%), mas com alta taxa de oxidação. Enquanto na cultivar Calimosa, a taxa de oxidação foi nula.

Referências

BARROSO, P. T. W. *et al.* Evaluation of the composition of *Carica papaya* L. seed oil extracted with supercritical CO₂. **Biotechnology Reports**, v. 11, p. 110-116, 2016.

BOSHRA, V.; TAJUL, A. Y. Papaya - an innovative raw material for food and pharmaceutical processing industry. **Health and the Environment Journal**, v. 1, n. 4, p. 68-75, 2013.

CARVALHO, E. M. L. *et al.* Physicochemical and sensory properties of papaya fruits of elite lines and hybrids. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 41, n. 1, p. 121-130, 2020.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

CHÁVEZ-PESQUEIRA, M.; NÚÑEZ-FARFÁN, J. Domestication and genetics of papaya: a review. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 5, p. 1-9, 2017.

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 (Ed.). **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória: INCAPER, p. 59-102, 2003.

COSTA, A. de F.S. da; COSTA, A.N. da; SANTOS, F.A.M. dos; BARRETO, F.C.; ZUFFO, V.J. Plantio, formação e manejo da cultura.. In: MARTINS, D. dos S.; COSTA, A. de F.S. da (Ed.). **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória: INCAPER, p.127-159, 2003..

DIAS, M. A. *et al.* Qualidade e compostos fenólicos em sementes de mamão alterados pela colheita e maturação dos frutos. **Ciência Rural**, v. 45, n. 4, p. 737-743, 2015.

DREW, R. A. Improved techniques for *in vitro* propagation and germoplasm storage of papaya. **HortScience**, v. 27, p. 1122-1124, 1992.

DREW, R.A. The effects of medium composition and conditions on *in vitro* initiation and growth of papaya (*Carica papaya* L.). **Journal of Horticultural Science**, v. 62, n. 4, p. 551-556, 1987.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Plano estratégico para a cultura do mamoeiro 2017-2021**. 2019.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Crops and livestock products**. 2021. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/>>. Acesso em: 04 de agosto de 2023.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística Produção agrícola municipal. **Produção Agrícola Municipal**. 2021. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9117-producao-agricola-municipal-culturas-temporarias-e-permanentes.html?=&t=o-que-e>>. Acesso em: 04 de agosto de 2023.

PRASETYA, A. T. *et al.* Isolation and identification of active compounds from papaya plants and activities as antimicrobial. **Materials Science and Engineering**, v. 349, p. 012007, 2018.

R CORE TEAM. R: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <<https://www.rproject.org/>>. Acesso em: 10 de julho de 2023.

REUVENI, O.; SHLESINGER, D. R.; LAVI, U. *In vitro* clonal propagation of dioecious *Carica papaya*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 20, p. 41-46, 1990.

TRIDGE. **Papaya**: 2019-2020. 2021. Disponível em: <<https://www.tridge.com/intelligences/papaya>>. Acesso em: 04 de agosto de 2023.

VENTURINI, T. *et al.* Estudo da secagem e extração de sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 5, n. 5, p. 950-959, 2012.

VIDAL, Francisco Ronaldo et al. Indução de brotações e assepsia de explantes de mamoeiro cv. Tainung 01 muda para micropropagação. **Agropecu**. Catarin., Florianópolis, v. 28, n. 1, p. 57-60, 2015.

WINNAAR, W. Clonal propagation of papaya *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 12, p. 305-310, 1988.

Agradecimentos

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) (EDITAL FAPES Nº 21/2022 APOIO À INFRAESTRUTURA DE PESQUISA, DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO EM LABORATÓRIOS INTERDISCIPLINARES, Protocolo: 51781.798.19068.30092022, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de produtividade em pesquisa e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - código financeiro 001, pelo apoio financeiro.