OTIMIZAÇÃO DE PROTOCOLO PARA INTRODUÇÃO E MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE MAMOEIRO (*Carica papaya* L.)

Mírian Piassi[1]*, Geís Ferreira Neves[1], Dandarha Coutinho Pigatti[1], Bárbara Côgo Venturim[1], Daniela Camporez[1], José Aires Ventura[1]

[1]Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper). Domingos Martins-ES.
*mirian.piassi@incaper.es.gov.br

INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma espécie frutífera de importância econômica nas regiões tropicais e subtropicais, destacando-se pelo valor nutricional e pela ampla aceitação de seus frutos (Petry *et al.*, 2025). O Brasil está entre os principais produtores mundiais, com destaque para os estados do Espírito Santo e da Bahia (Ruggiero *et al*., 2011; Martins *et al.*, 2024). Contudo, a cultura é afetada por doenças causadas principalmente por vírus e fungos, que comprometem o desenvolvimento das plantas, a produtividade e a qualidade dos frutos (Koul *et al*., 2022; Patil; Tripathi, 2024). Além disso, a domesticação e a seleção dos materiais cultivados contribuíram para a redução da diversidade genética da espécie (Chávez-Pesqueira; Núñez-Farfán, 2017). A conservação adequada das variedades é, portanto, estratégica para evitar a perda de diversidade e garantir sua disponibilidade para pesquisas futuras (Mascher *et al.*, 2019).

Nesse contexto, a micropropagação constitui uma ferramenta importante para a conservação e multiplicação de genótipos de interesse. O uso de gemas apicais e axilares permite a regeneração por organogênese direta, favorecendo a obtenção de plantas geneticamente uniformes (Waidyaratne *et al*., 2022) e a clonagem de genótipos com características agronômicas desejáveis, incluindo plantas hermafroditas (Fitch *et al*., 2022; Araya-Valverde *et al.,* 2019). Diante disso, a otimização de protocolos de micropropagação contribui para a introdução, multiplicação e conservação de acessos de germoplasma com potencial para estudos de diversidade genética e resistência a doenças (Flores-Hernández *et al.*, 2024). Um protocolo eficiente e reprodutível poderá favorecer a conservação *ex situ* em bancos de germoplasma *in vitro*, além de disponibilizar material vegetal para futuras pesquisas. Este trabalho teve como objetivo otimizar um protocolo de micropropagação de mamoeiros (*C. papaya*), utilizando gemas apicais e axilares como explantes, visando à sua introdução *in vitro* e conservação na coleção de germoplasma do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper).

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos e Células Vegetais do Instituto Capixaba

de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper), município de Domingos Martins-ES no período de janeiro de 2025 a maio de 2026.

Estabelecimento *in vitro*

Duas variedades de mamoeiros (MAM1_FD e MAM2_TAN) foram semeadas em vasos contendo substrato agrícola e cultivadas por quatro meses em casa de vegetação. Após esse período, as gemas axilares e apicais de 10 plantas do acesso MAM1_FD e de 16 plantas do acesso MAM2_TAN foram extraídas, desinfestadas e introduzidas *in vitro* em dois meios de cultura diferentes: M1 e M2, ambos contendo meio basal MS e acrescidos de 0,22 µM e 0,44 µM de BAP, respectivamente. Para desinfestação, as gemas foram mergulhadas em álcool 70% por 1 min, em hipoclorito de sódio (2,0%) por 20 min, e depois enxaguadas três vezes em água destilada deionizada e autoclavada. Em ambiente asséptico de fluxo laminar, o material vegetal foi reduzido até o tamanho aproximado de 1-2 mm antes de ser inoculado nos meios de cultivo. Os frascos contendo as gemas foram incubados em sala de crescimento, na temperatura de 25 ± 2 ºC, intensidade luminosa de 30-50 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ e fotoperíodo de 16h. Os subcultivos seguintes foram realizados a cada 120 dias. Após 13 dias de estabelecimento, foram avaliados os seguintes aspectos morfofisiológicos dos brotos originados: coloração predominante, comprimento e calogênese. Foram calculadas as médias com desvios padrão e os dados foram analisados descritivamente.

Multiplicação *in vitro*

Após três subcultivos em meio M1 e M2, as brotações foram submetidas a um experimento, onde foram avaliados dois meios de cultivo para multiplicação e brotação: T1: MS + 5 µM 2ip e T2: MS + 0,5 µM 2ip. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo cada repetição composta por uma placa de Petri contendo cinco brotos cada. Após 15 dias de cultivo foram avaliados o número de brotos formados e a formação de calos em ambos os tratamentos. Foram realizados subcultivos com intervalos de 15 dias, realizados nos mesmos meios de cultivo por um período de 60 dias. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey ($p < 0,5$), utilizando *Software* R versão 4.5.1

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estabelecimento *in vitro*

Os meios de cultivo utilizados (M1 e M2) foram eficientes para introdução dos acessos de mamoeiros MAM1_FD e MAM2_TAN (Tabela 1), não sendo observada mortalidade de gemas após 13 dias de cultivo nem oxidação severa. Todas as gemas apresentaram crescimento nesse período, onde a coloração variou entre verde claro e verde (VC e VE). No entanto, observou-se que os materiais provenientes da gema axilar tenderam a formar mais calos do que aqueles originários de gemas apicais. A organogênese *in vitro* do mamoeiro é fortemente regulada pela interação entre auxinas e citocininas, sendo o balanço entre esses reguladores determinante para a resposta morfogênica dos tecidos (Zhao *et al.*, 2021). Portanto, a concentração endógena

desses reguladores no tecido introduzido impacta fortemente as respostas iniciais de cultivo.

Após a terceira subcultura foi observada deterioração progressiva das brotações mantidas no meio de cultivo M2, seguida por necrose e consequente perda de viabilidade do material vegetal. Os explantes cultivados no meio M1 mantiveram-se viáveis durante todo os períodos de incubação, no entanto, foi observado um incremento contínuo na formação de calos, sem evidências de progressão para a formação ou desenvolvimento de brotos.

Tabela 1 - Estabelecimento de gemas axilares e apicais de mamoeiros (MAM1_FD e MAM2_TAN), após 13 dias de cultivo *in vitro*

Acesso	Tipo de gema	Coloração Predominante[1]	Comprimento dos Brotos (cm) ± DP[2]	Calos (Nº) ± DP[2]
MAM1_FD	Apical M1	VE	0,80 ± 0,42	0,00 ± 0,00
MAM1_FD	Apical M2	VE	0,77 ± 0,06	1,00 ± 1,00
MAM1_FD	Axilar M1	VC	0,53 ± 0,15	2,75 ± 0,50
MAM1_FD	Axilar M2	VC	0,63 ± 0,19	1,75 ± 0,50
MAM2_TAN	Apical M1	VE	0,83 ± 0,15	0,00 ± 0,00
MAM2_TAN	Apical M2	VE	0,77 ± 0,06	0,00 ± 0,00
MAM2_TAN	Axilar M1	VC	0,54 ± 0,24	1,71 ± 1,70
MAM2_TAN	Axilar M2	VC	0,40 ± 0,14	2,50 ± 0,71

[1]VE – verde; VC - verde claro. [2]DP - Desvio-padrão.

Multiplicação *in vitro*

Para o acesso MAM1_FD, o tratamento T2 (MS + 0,5 µM 2ip) apresentou maior média no número de brotos em relação ao T1, não sendo observada formação de calos nos primeiros 15 dias de cultivo (Tabela 2).

Tabela 2 - Efeito dos meios T1 (MS + 5 µM 2ip) e T2 (MS + 0,5 µM 2ip) na multiplicação e calogênese de mamoeiros (MAM1_FD e MAM2_TAN) após 15 dias no cultivo *in vitro*

Acesso	Meio de Estabelecimento	Tratamento Multiplicação	Brotos (Nº)[1] ± DP[2]	Calos (Nº)[1] ± DP[2]
MAM1_FD	M1	T1	0,20 ± 0,42 **b**	0,50 ± 0,70
MAM1_FD	M1	T2	4,09 ± 2,30 **a**	0,00 ± 0,00
MAM2_TAN	M1	T1	0,00 ± 0,00	1,00 ± 2,00
MAM2_TAN	M1	T2	0,00 ± 0,00	1,11 ± 1,40

[1]Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). [2]DP - Desvio-padrão.

O maior número de brotos, observado no meio suplementado com 0,5 µM de 2iP em comparação à concentração de 5 µM, indica que concentrações mais elevadas dessa citocinina não necessariamente promove

maior proliferação de brotos. Resultados semelhantes foram observados por Vidal *et al*. (2013); onde 2,5 mg/L de 2ip foi superior na proliferação de brotos de mamoeiro comparadas a doses de 5,0 e 10 mg/L.

Ao longo dos subcultivos subsequentes, apesar de ter sido observada intensa calogênese acompanhada de redução da qualidade morfogênica dos explantes aos 30 dias (Figura 1A), aos 60 dias observou-se, entretanto, desenvolvimento de folhas e a formação de novas brotações (Figura 1B).

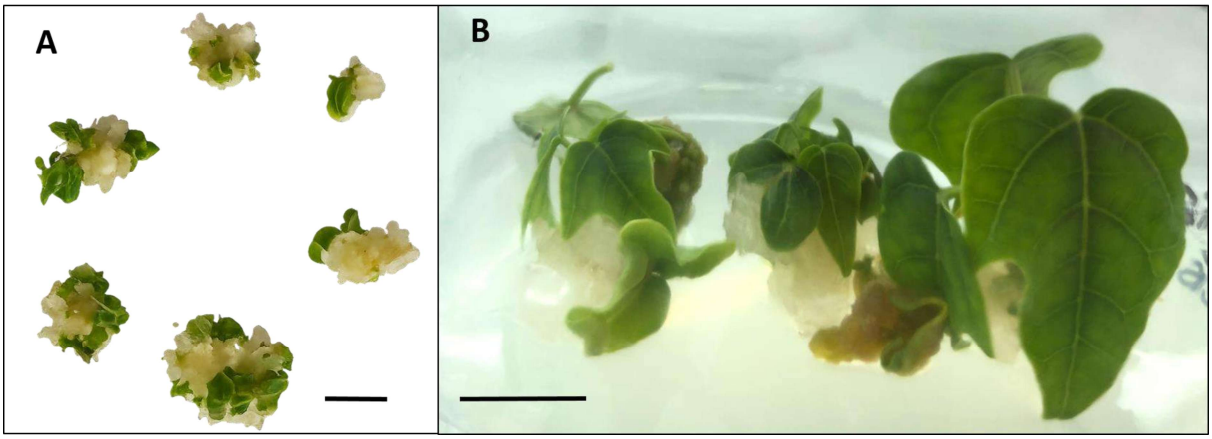


Figura 1 - Multiplicação *in vitro* do acesso de mamoeiros MAM1_FD em meio de cultivo T2 (MS + 0,5 µM 2ip), após 30 dias (A) e após 60 dias (B). Barras = 1 cm.

CONCLUSÃO

Embora os meios de estabelecimento M1 e M2 tenham permitido o estabelecimento inicial das gemas dos acessos de mamoeiro estudados, o meio MS + 0,22 µM de BAP (M1) apresentou maior eficiência na manutenção da viabilidade do acesso MAM1_FD durante o cultivo prolongado. O meio de multiplicação MS + 0,5 µM 2ip foi mais eficiente para multiplicação de brotos. Embora ajustes nas condições de estabelecimento, redução da calogênese e otimização das etapas de multiplicação e desenvolvimento das plântulas sejam necessários para aumentar a eficiência do processo, o procedimento descrito promoveu estabelecimento e multiplicação satisfatória do mamoeiro MAM1_FD, possibilitando o estabelecimento *in vitro* e depósito desta variedade na coleção de germoplasma do Incaper.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (Fapes), e à Secretaria de Estado da Agricultura, Abastecimento, Aquicultura e Pesca (SEAG) pelo apoio financeiro ao projeto (Inovagro Nº 03/ 2024, Processo 2024-4Q23P).

REFERÊNCIAS

ARAYA-VALVERDE, E.; BOGANTES, A.; HOLST, A.; VARGAS-MORA, C.; GÓMEZ-ALPÍZAR, L.; BRENES, A.; SÁNCHEZ-BARRANTES, E.; CHAVARRÍA, M.; BARBOZA-BARQUERO, L. Field performance of hermaphrodite papaya plants obtained through molecular selection and micropropagation. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 19, n. 4, p. 420-427, 2019. http://dx.doi.org/10.1590/1984- 70332019v19n4a59

CHÁVEZ-PESQUEIRA, M.; NÚÑEZ-FARFÁN, J. Domestication and genetics of papaya: A Review. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 155, n. 5, 2017. http://dx.doi.org/10.3389/fevo.2017.00155

FITCH, M.M.M.; ANCHETA, M.J.; HUYNH, L.C.; HE, X.; ORTEGA, M.A.; FIELDS, H.K.; MURAKAMI, C.M.; SHAW, J.R.; LOPES, J. Micropropagation of hermaphrodite papayas: increased root induction and plant survival during acclimatization. **HortScience**, v. 57, n, 5, 629-633, 2022. DOI: https://doi.org/10.21273/HORTSCI16498-22

FLORES-HERNANDEZ, L.A.; OTERO-SÁNCHEZ, M.A.; MARÍN-MONTES, I.M.; SABINO-LÓPES, J.E.; VÉLEZ-TORRES, M. Recursos genéticos de papaya en México y su conservación para el mejoramiento genético. **Revista Mexicana de Ciências Agrícolas**, v. 15, n. 8, p. 36-78, 2024. DOI: https://doi.org/10.29312/remexca.v15i8.3678

KOUL, B.; PUDHUVAI, B.; SHARMA, C.; KUMAR, A.; SHARMA, V.; YADAV, D.; JIN, J.O. *Carica papaya* L.: A tropical fruit with benefits beyond the tropics. **Diversity**, v. 14, p. 683, 2022. DOI: https://doi.org/10.3390/d14080683

MARTINS, D.S.; VENTURA, J.A.; FERREGUETTI, G.A.; MARIN, S.L.D. **Recomendações técnicas para o cultivo do mamoeiro**. Incaper. Vitoria-ES. 2024. 198 p. http://dx.doi.org/10.54682/livro.9788589274487

MASCHER, M.; SCHREIBER, M.; SCHOLZ, U.; GRANER, A.; REIF, J.C.; STEIN, N. Genebank genomics bridges the gap between the conservation of crop diversity and plant breeding. **Nature Genetics**, v. 51, n. 7, p. 1076-1081, 2019. http://dx.doi.org/10.1038/s41588-019-0443-6

PATIL, B.L.; TRIPATHI, B.L. Differential expression of microRNAs in response to Papaya ringspot virus infection in differentially responding genotypes of papaya (*Carica papaya* L.) and its wild relative. **Frontiers in Plant Science**, v. 20, p. 437-1398, 2024. http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2024.1398437

PETRY, H.B.; BARATTI, A.C.C.; BRIGHENTI, A.F.; GONZATTO, M.P.; CITADIN, I.; SOUZA, A.L.K. Brazilian fruit agribusiness. **Fruit, Crop and Science Journal**, v. 1, 2025. http://dx.doi.org/10.1590/3085-89092025001

RUGGIERO, C.; MARIN, S.L.D.; DURIGAN, J.F. Mamão, uma história de sucesso. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, 2011. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-29452011000500011

VIDAL, F.R.; DINIZ, J.D.N.; SILVA, F.P. Multiplicação *in vitro* de plantas juvenis de mamoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 1, p. 64-70, 2013. DOI: https://doi.org/10.1590/S1983-40632013000100010

WAIDYARATNE, S.M.; SAMANMALIE, L.G.I.; BUDDHINIE, P.K.C. *In vitro* propagation of *Carica papaya* L. variety 'Horana Papaya Hybrid 01' using shoot tip. **World Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 1, p. 15-19, 2022. http://dx.doi.org/10.12691/wjar-10-1-3

ZHAO, X.; SONG, J.; ZENG, Q.; MA, Y.; FANG, H.; YANG, L.; DENG, B.; LIU, J.; FANG, J.; ZUO, L.; YUE, J. Auxin and cytokinin mediated regulation involved in vitro organogenesis of papaya. **Journal of Plant Physiology**, v. 260, p. 153405, 2021. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153405