



Estabelecimento in Vitro de Meloeiro Amarelo Híbrido Goldex



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agroindústria Tropical
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
236**

**Estabelecimento in Vitro de Meloeiro
Amarelo Híbrido Goldex**

Frederico Inácio Costa de Oliveira
Alexya Vitoria Felix Carvalho
Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho
Fernando Antonio Souza de Aragão

***Embrapa Agroindústria Tropical
Fortaleza, CE
2022***

Unidade responsável pelo conteúdo e edição:

Embrapa Agroindústria Tropical
Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici
CEP 60511-110 Fortaleza, CE
Fone: (85) 3391-7100
Fax: (85) 3391-7109
www.embrapa.br/agroindustria-tropical
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Agroindústria Tropical

Presidente
Antônio Genésio Vasconcelos Neto

Secretária-executiva
Celli Rodrigues Muniz

Secretária-administrativa
Eveline de Castro Menezes

Membros
Afrânio Arley Teles Montenegro, Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho, Christiana de Fátima Bruce da Silva, Francisco Nelsieudes Sombra Oliveira, José Roberto Vieira Júnior, Laura Maria Bruno, Roselayne Ferro Furtado, Sandra Maria Moraes Rodrigues

Revisão de texto
José Cesamildo Cruz Magalhães

Normalização bibliográfica
Rita de Cassia Costa Cid

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
José Cesamildo Cruz Magalhães

Foto da capa
Antônio Cláudio dos Santos Pinto

1ª edição
Publicação digital (2022): PDF

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Agroindústria Tropical

Estabelecimento in vitro de meloeiro amarelo híbrido Goldex / Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho... [et al.].
– Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2022.

23 p. : il. ; 16 cm x 22 cm – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Agroindústria Tropical, ISSN 1679-6543; 236).

Publicação disponibilizada on-line no formato PDF.

1. *Cucumis melo*. 2. Desinfestação. 3. Cultura de tecidos vegetal. 4. Contaminação. 5. Oxidação. I. Oliveira, Frederico Inácio Costa de. II. Carvalho, Alexya Vitoria Felix. III. Carvalho, Ana Cristina Portugal Pinto de. IV. Aragão, Fernando Antonio Souza de. V. Série.

CDD 635.611

Sumário

Resumo.....4

Abstract.....6

Introdução.....7

Material e Métodos.....10

Resultados e Discussão.....12

Conclusões.....17

Agradecimentos.....18

Referências.....18

Estabelecimento in Vitro de Meloeiro Amarelo Híbrido Goldex

Frederico Inácio Costa de Oliveira¹

Alexya Vitoria Felix Carvalho²

Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho³

Fernando Antonio Souza de Aragão⁴

Resumo - Para aplicação de técnicas biotecnológicas aos programas de melhoramento genético, é indispensável o desenvolvimento de protocolos de regeneração de plantas por cultura de tecidos, sendo a primeira etapa o estabelecimento in vitro. Objetivou-se definir o tipo de explante e o procedimento de desinfestação mais adequados para estabelecimento in vitro do meloeiro amarelo híbrido Goldex. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, esquema fatorial com três tipos de explantes (gema apical, folha jovem e gavinha) e quatro procedimentos de desinfestação: I. etanol 70% (1 min) + hipoclorito de sódio (NaClO) com 0,1% de cloro ativo (ca) (7,5 min); II. etanol 70% (2 min) + NaClO com 0,2% de ca (7,5 min); III. etanol 70% (3 min) + NaClO com 0,3% de ca (7,5 min); e IV. etanol 70% (4 min) + NaClO com 0,4% de ca (7,5 min). Foram avaliados os percentuais de oxidação e contaminação e estimou-se a correlação entre eles. O aumento da concentração de cloro e do tempo de exposição ao etanol propiciou maior oxidação dos explantes. O percentual de contaminação foi inversamente

¹ Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitotecnia, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, PE

² Bióloga, mestranda do Programa de Pós-Graduação em Sistemática, Uso e Conservação da Biodiversidade (PPGSIS), Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE

³ Bióloga, doutora em Genética, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE

⁴ Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitotecnia, pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE

proporcional ao de oxidação, sendo significativa para gema apical e folha jovem. Explante de gavinha e procedimento de desinfestação I são mais adequados para estabelecimento in vitro do meloeiro amarelo híbrido Goldex.

Termos para indexação: *Cucumis melo* L., desinfestação, cultura de tecidos vegetal, contaminação, oxidação.

In Vitro Establishment of Goldex Hybrid Yellow Melon

Abstract - For biotechnological techniques' application, in genetic improvement programs, it is essential to develop methods of plant regeneration, by tissue culture, the first step being the in vitro establishment. The objective was to define the most suitable explant type and disinfection procedure for in vitro establishment of melon yellow hybrid Goldex. Experimental design was completely randomized, factorial scheme of three types of explants (apical bud, young leaf and tendril) and four disinfection procedures: I. 70% ethanol (1 min) + sodium hypochlorite (NaClO) with 0, 1% active chlorine (ac) (7.5 min); II. 70% ethanol (2 min) + NaClO with 0.2% ac (7.5 min); III. 70% ethanol (3 min) + NaClO with 0.3% ac (7.5 min) and IV. 70% ethanol (4 min) + NaClO with 0.4% ac (7.5 min). Oxidation and contamination percentages and correlation between them were evaluated. Increase in concentration of chlorine and time of exposure to ethanol provided greater oxidation of the explants. Contamination percentage was inversely proportional to oxidation percentage, it was significant for apical bud and young leaf. Tendrils explants and disinfection I are most suitable for in vitro establishment of melon yellow hybrid Goldex.

Index terms: *Cucumis melo* L., disinfection, plant tissue culture, contamination, oxidation.

Introdução

O melão é uma hortaliça de expressiva relevância mundial, atingindo, em 2020, uma produção aproximada de 26,6 milhões de toneladas em mais de 1,06 milhão de hectares colhidos (FAO, 2021). No Brasil, neste mesmo ano, foram colhidas mais de 613 mil toneladas em cerca de 24 mil hectares (IBGE, 2021), representando apenas 2,3% da produção mundial. A região Nordeste contribuiu com mais de 96% da produção nacional, com destaque dos estados do Ceará e Rio Grande do Norte, responsáveis por 72% do percentual regional da produção (IBGE, 2021).

Os tipos de melão mais plantados são o Amarelo, Cantaloupe, Pele-de-sapo, Orange, entre outros com menor demanda (Canal do horticultor, 2021). Cultivares comerciais de meloeiro são, em sua maioria, híbridos F1. Esses híbridos são obtidos a partir do cruzamento entre parentais com alto grau de homozigose, isto é, linhagens puras, cujo valor é inestimável para os programas de melhoramento genético (Dong et al., 2016). Entretanto, por meio das técnicas convencionais de melhoramento de plantas, a obtenção de linhagens puras requer tempo e recursos significativos, devido às rodadas sucessivas de autofecundação e de retrocruzamentos (Yashiro et al., 2002). De acordo com Oliveira (2018), em locais onde a cultura do meloeiro só avança um ciclo por ano, a obtenção de linhagens puras pode necessitar de mais de 10 anos.

Segundo Dhumal et al. (2020), para aplicação das técnicas biotecnológicas aos programas de melhoramento genético, é de fundamental importância que sejam desenvolvidos protocolos eficientes de regeneração de plantas por meio da cultura de tecidos.

Nos últimos dez anos, protocolos de regeneração, tanto por organogênese (Choi et al., 2012; Faria et al., 2013; García-Almodóvar et al., 2017; Grozeva et al., 2019; Naderi et al., 2016; Naderi; Mahmoudi, 2017; Parvin et al., 2013; Peraita, 2016; Probawati; Daryono, 2018; Raji; Fatajpour, 2021; Rahman et al., 2012; Reis et al., 2019; Ren et al., 2012; 2013; Sebastiani; Ficcadenti, 2016; Tekdal; Cetiner, 2013; Venkateshwaralu, 2012; Zhang et al., 2014) quanto por embriogênese somática (Furqoni; Efendi, 2018; Naderi et al., 2011; Raji et al., 2018), têm sido descritos para um número significativo de variedades e tipos de meloeiros. Porém, esses estudos revelam uma

grande variação nas respostas morfogênicas, indicando que diversos fatores podem afetar a eficiência dos protocolos, tais como genótipo, fonte de explante, tipos e concentrações dos fitorreguladores, condições de cultivo, entre outros. Apesar de todos os esforços, o cultivo *in vitro* de meloeiro persiste difícil, tendo em vista principalmente a influência do genótipo (Sebastiani; Ficcadenti, 2016). Portanto, o fator genótipo determina a necessidade do desenvolvimento de protocolos de regeneração para cada variedade e tipo específico de meloeiro visando à otimização da resposta *in vitro*.

Na regeneração via organogênese, os explantes mais utilizados de meloeiro são cotilédone (Choi et al., 2012; García-Almodóvar et al., 2017; Grozeva et al., 2019; Naderi et al. 2016; Naderi; Mahmoudi, 2017; Peraita, 2016; Probowati; Daryono, 2018; Raji; Farajpour, 2021; Reis et al., 2019; Ren et al., 2012; 2013; Sebastiani; Ficcadenti, 2016; Stipp et al., 2001; Tekdal; Cetiner, 2013; Zhang et al., 2014), hipocótilo (Grozeva et al., 2019; Peraita, 2016), gema apical (Faria et al., 2013; Parvin et al., 2013; Rahman et al., 2012; Venkateshwaralu, 2012), nó cotiledonar (Parvin et al., 2013), folha (Stipp et al., 2001) e segmento nodal (Parvin et al., 2013; Rahman et al., 2012). Entretanto, não há relato na literatura do uso de explantes de gavinha na cultura de tecidos de meloeiro. As gavinhas, em meloeiro, são geralmente utilizadas em trabalhos de taxonomia e caracterização morfológica (Ajuru; Okoli, 2013), e também para análise cromossômica visando à identificação de poliploidia (Yadav; Grumet, 1994).

A grande maioria dos trabalhos anteriormente referenciados, relativos à regeneração via organogênese em meloeiro, utiliza explantes obtidos a partir da germinação *in vitro* de sementes. Essa é a prática mais empregada, tendo em vista que a desinfestação é feita na própria semente e não diretamente no explante a ser introduzido *in vitro*. Entretanto, como o meloeiro é considerado uma espécie tanto de polinização cruzada quanto de autofecundação, a regeneração a partir de explantes obtidos de plântulas germinadas *in vitro* pode resultar na obtenção de plantas com variabilidade genética, isto é, diferentes genotipicamente da planta matriz.

Porém, quando se objetiva a multiplicação *in vitro*, o recomendável é a utilização de explantes obtidos diretamente da planta matriz. Sendo assim, quando se faz uso de explantes excisados a partir de plantas mantidas no campo ou em casa de vegetação, a desinfestação, ou seja, a remoção de

contaminantes existentes na superfície do próprio explante, é um passo indispensável na cultura in vitro (Barrueto-Cid; Teixeira, 2010), pois os níveis de contaminação tendem a ser maiores (Navroski, 2011). Entre os estudos citados anteriormente com a cultura de tecidos de meloeiro, apenas o trabalho de Stipp et al. (2001) emprega explantes excisados de plantas cultivadas em casa de vegetação.

A descontaminação dos explantes vem sendo uma das etapas mais importantes do processo de micropropagação (Marchi; Fernandes, 2020). O processo de desinfestação é a primeira etapa para o estabelecimento in vitro de uma cultura, implicando a eliminação dos microrganismos superficiais do explante, a fim de evitar contaminações extremamente prejudiciais na introdução, incubação e manipulação do material (Souza et al., 2006b). Os danos causados pela contaminação microbiana são inúmeros pelo fato desses organismos competirem com os explantes pelos nutrientes do meio de cultivo, além de liberarem metabólitos tóxicos que podem ocasionar a morte do explante (Grattapaglia; Machado, 1998). A maioria desses microrganismos contaminantes são notadamente bactérias e fungos (Souza et al., 2006a).

A contaminação normalmente ocorre em razão do crescimento de microrganismos que não foram eliminados por completo durante a desinfestação do material vegetal ou por falhas de assepsia de ferramentas, equipamentos, meios de cultivo, operador, entre outros (Thomas; Aswath, 2013). Já o aparecimento de microrganismos em decorrência de outros mecanismos que não se relacionam a erros durante o processo de cultivo in vitro tem sido denominado de manifestação endofítica (Esposito-Polesi et al., 2017). Barrueto e Jordan (2006) destacam que quando a contaminação é exógena, a desinfestação é mais fácil de ser efetuada; entretanto, quando é endógena, o processo de descontaminação se torna mais difícil, podendo haver perdas de tempo, recursos financeiros e material genético. Segundo Souza et al. (2006b), a presença de bactérias endógenas em algumas espécies vem dificultando sobremaneira o estabelecimento de protocolos de micropropagação de muitas culturas. Hooghvorst et al. (2020) constataram a presença de contaminações endofíticas por fungos e bactérias no estabelecimento in vitro de sementes de meloeiro cv. Pele-de-sapo, mesmo depois da realização do processo de desinfestação inicial.

Além da contaminação, a oxidação por polifenóis no meio de cultivo é outro entrave no estabelecimento in vitro dos explantes (Souza et al., 2006b). A oxidação em cultura de tecidos ocorre quando os tecidos cortados tornam-se escuros. Esse escurecimento é resultante da reação de compostos fenólicos liberados ao meio de cultivo, com o oxigênio (Carvalho et al., 2011).

Sendo assim, é de grande importância a determinação de métodos que aprimorem o uso da cultura de tecidos visando reduzir a taxa de contaminação, suavizar os índices de oxidação no meio de cultivo e nos tecidos vegetais e, conseqüentemente, elevar o sucesso no estabelecimento in vitro de explantes de meloeiro. Nesse contexto, o presente trabalho teve por objetivo definir o tipo de explante e o procedimento de desinfestação mais adequados para o estabelecimento in vitro da cultura do meloeiro amarelo híbrido Goldex a partir de plantas cultivadas em casa de vegetação.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Agroindústria Tropical, em Fortaleza, CE, no período de novembro a dezembro de 2016. Foram utilizados como explantes: folhas jovens (em processo de expansão foliar, localizadas próximas às regiões apicais, com aproximadamente 1,0 cm de largura e de comprimento), gemas apicais (contendo primórdios foliares, com aproximadamente 1,0 cm de altura) e segmentos de ápice de gavinha, com aproximadamente 1,0 cm de comprimento (Figura 1). Esses explantes foram excisados de plantas de meloeiro (*Cucumis melo* L. var *inodorus*) amarelo híbrido Goldex, cultivadas em casa de vegetação, que apresentavam aproximadamente de duas a quatro semanas depois do transplântio.

O meio de cultivo utilizado foi o MS (Murashige; Skoog, 1962), adicionado com 30 g L⁻¹ de sacarose e solidificado com ágar a 6,5 g L⁻¹, sem a adição de fitorreguladores. O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, que foi realizada a 121 °C, sob pressão de 1,05 kg cm⁻², durante 15 minutos. Em capela de fluxo laminar, os explantes (folhas jovens, gemas apicais e segmentos de gavinha) foram introduzidos, após o procedimento de desinfestação, em tubos de ensaio (25 mm x 150 mm) contendo 10,0 mL de meio de cultivo e apenas um explante por tubo de ensaio.

Fotos: Frederico Inácio Costa de Oliveira

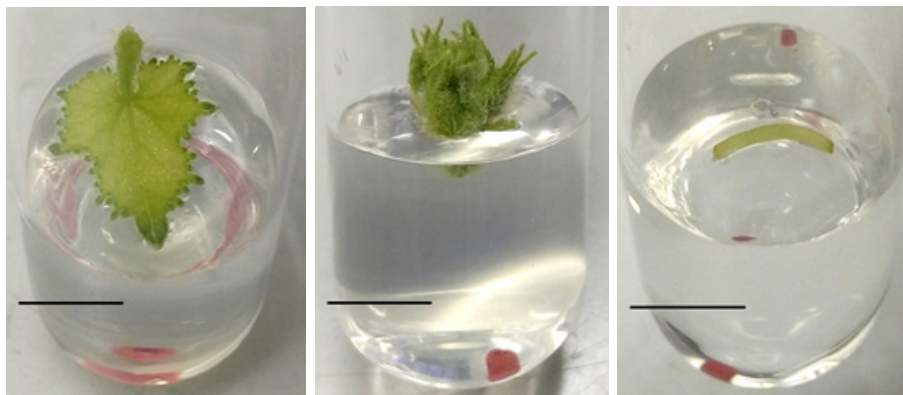


Figura 1. Tipos de explantes de meloeiro (*Cucumis melo* L. var *inodorus*) amarelo híbrido Goldex utilizados: folha jovem (esquerda); gemas apicais (centro); e segmento de gavinha (direita), com aproximadamente 1,0 cm de comprimento. Barra = 1,0 cm.

As culturas inicialmente foram mantidas em sala de crescimento, a 25 ± 1 °C, no escuro, durante sete dias, sendo posteriormente submetidas à intensidade luminosa próxima de $30 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$, sob fotoperíodo de 16 horas de luz.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial (3×4), constituído por três tipos de explantes (folha jovem, gema apical e gavinha) e quatro procedimentos de desinfestação: (I. etanol 70% (1 min) + hipoclorito de sódio (NaClO) com 0,1% de cloro ativo (7,5 min); II. etanol 70% (2 min) + NaClO com 0,2% de cloro ativo (7,5 min); III. etanol 70% (3 min) + NaClO com 0,3% de cloro ativo (7,5 min); e IV. etanol 70% (4 min) + NaClO com 0,4% de cloro ativo (7,5 min), todos finalizados com três enxagues com água destilada e autoclavada, totalizando 12 tratamentos, em seis repetições, sendo cada repetição formada por cinco tubos contendo um explante cada. Após a inoculação dos explantes nos tubos de ensaio, estes recipientes foram vedados com tampas de polipropileno, envoltas com PVC (policloreto de vinila).

Aos 60 dias de cultivo in vitro, as culturas foram avaliadas quanto à contaminação e oxidação dos explantes. Considerou-se contaminado o explante que apresentava a presença de microrganismos, sem fazer a distinção entre os tipos. Os explantes foram considerados oxidados

quando apresentavam um amarelecimento inicial seguido de escurecimento (coloração marrom) em mais da metade da superfície do tecido, com posterior possibilidade de morte do explante.

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade, para posterior análise de variância e, quando não foi possível ajuste por meio da transformação Box-Cox (1964), foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, sendo as médias comparadas pelo teste de Bonferroni ao nível de significância de 5%. Também foram avaliadas as correlações entre as porcentagens de contaminação e oxidação, de modo geral e para cada tipo de explante, por meio do coeficiente de correlação de Spearman, sendo a significância estimada pelo teste *t* (5%).

Resultados e Discussão

De uma forma geral, as maiores porcentagens de contaminação foram verificadas nos explantes de gema apical e folha jovem, os quais foram submetidos à menor concentração de cloro ativo (0,1%) e menor tempo de imersão em etanol 70% (1 min) - procedimento de desinfestação I. Esses mesmos tipos de explantes, quando submetidos à desinfestação IV, apresentaram os menores índices de contaminação. Na prática, espera-se que haja redução da porcentagem de contaminação com o aumento da concentração de cloro ativo na solução desinfetante, e provavelmente também com o maior tempo de exposição dos explantes ao etanol 70%. Vieira et. al. (2021) constataram que os ápices caulinares de bananeira cv. Pacovan apresentaram menor índice de contaminação quando foi maior o tempo de imersão dos explantes nas soluções desinfestantes.

Em relação aos tipos de explantes, os de gema apical e de folha jovem, no procedimento de desinfestação I apresentaram os maiores índices de contaminação, 76,67% e 70,00%, respectivamente, em relação aos de gavinha, 3,33%. Já nos procedimentos II, III e IV, esses valores foram menores do que aqueles registrados no procedimento I, indicando que, com aumento da concentração de cloro ativo e do tempo de imersão em etanol 70%, ocorreu uma menor contaminação desses dois tipos de explantes (Tabela 1). Stipp (2000) também constatou que os explantes de disco de folha, obtidos

de plantas de meloeiro mantidas em casa de vegetação, apresentaram uma taxa de contaminação muito elevada em relação aos explantes de cotilédono.

Tabela 1. Porcentagens de contaminação e oxidação de gemas apicais, folhas jovens e gavinhas de meloeiro (*Cucumis melo* L. var *inodorus*) amarelo híbrido Goldex, em quatro procedimentos de desinfestação dos explantes, aos 60 dias de cultivo in vitro. Embrapa Agroindústria Tropical, 2016.

Explante	Tratamentos¹				Média
	I	II	III	IV	
	Contaminação (%)				
Gema apical	76,67 bB²	55,00 bB	13,33 aA	3,33 aA	37,08
Folha jovem	70,00 cB	20,00 bAB	20,00 bA	0,00 aA	27,50
Gavinha	3,33 aA	10,00 aA	6,67 aA	3,33 aA	5,83
Média	36,67	15,00	13,33	1,67	16,67
Oxidação (%)					
Gema apical	0,00 aA	5,00 abA	16,67 bA	96,67 cB	29,58
Folha jovem	3,33 aA	4,00 aA	6,67 aA	93,33 bB	26,83
Gavinha	6,67 aA	13,33 aA	66,67 bB	70,00 bA	39,17
Média	5,00	8,67	36,67	81,67	33,00

¹ Tratamentos: I. etanol 70% (1 min) + hipoclorito de sódio (NaClO) com 0,1% de cloro ativo (7,5 min); II. etanol 70% (2 min) + NaClO com 0,2% de cloro ativo (7,5 min); III. etanol 70% (3 min) + NaClO com 0,3% de cloro ativo (7,5 min); e IV. etanol 70% (4 min) + NaClO com 0,4% de cloro ativo (7,5 min).

² Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, e mesma letra minúscula, na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0.05$).

A elevada porcentagem de contaminação dos explantes, em especial de gema apical e de folha jovem, provavelmente ocorreu por ter sido utilizado material vegetal coletado de plantas mantidas em casa de vegetação. Cavalcante et al. (2015) ressaltam que é difícil a obtenção de culturas in vitro totalmente assépticas provenientes de material com origem ex vitro, pois

geralmente os explantes provenientes do campo já possuem microrganismos contaminantes no interior dos tecidos, mesmo sem apresentar sintomas aparentes.

Reis (2018) ressalta que a alta taxa de contaminação pode estar relacionada à concentração e ao tempo de exposição dos explantes ao hipoclorito. A concentração do produto desinfestante e o tempo de imersão no tratamento de descontaminação dependem principalmente do tipo de tecido, isto é, materiais provenientes do campo devem ser imersos em concentrações mais altas e por tempo mais prolongado (Souza et al., 2006b). Esse fato foi constatado nos explantes de folha jovem e de gema apical, nos quais a contaminação foi menor quando eles foram submetidos a concentrações mais altas de cloro ativo e maior tempo de imersão em etanol 70%.

As gavinhas apresentaram as menores porcentagens de contaminação no procedimento desinfestação I, quando comparadas aos três tipos de explantes. No entanto, diferentemente do que foi observado para os explantes de gema apical e folha jovem, o aumento da concentração de cloro ativo na solução de desinfestação não resultou em redução da contaminação nos explantes de gavinha.

As gavinhas, estruturas características da família Cucurbitaceae, são espiraladas, simples ou ramificadas, subopostas às folhas na região dos nós caulinares, geralmente lisas a estriadas ou sulcadas, glabrescentes a fortemente vilosas (Cardoso Júnior, 2017). Provavelmente as menores porcentagens de contaminação registradas nos explantes de gavinha estejam relacionadas ao fato dessas estruturas apresentarem menor superfície de contato, em comparação aos explantes de gema apical e folha jovem, e também pela ausência ou presença de poucos pelos, dificultando a aderência dos agentes contaminantes, o que faz dessa estrutura um explante adequado para o estabelecimento *in vitro* da cultura, em comparação aos outros dois tipos testados.

Dentre os trabalhos citados anteriormente, apenas o de Stipp et al. (2001) faz menção à contaminação. Esses autores constataram menor contaminação nos explantes de cotilédones, obtidos de embriões zigóticos germinados *in vitro*, em comparação com os explantes de folha oriundos de plantas desenvolvidas em casa de vegetação, não citando, entretanto, o percentual de contaminação presente nos explantes.

Os níveis de contaminação tendem a ser maiores quando as plantas utilizadas como doadoras de explante são provenientes do campo (Navroski, 2011) ou da casa de vegetação, como as utilizadas no presente trabalho. Stipp (2000) constatou alta porcentagem de contaminação nos experimentos realizados com explantes de discos foliares de meloeiro excisados de plantas mantidas em casa de vegetação, atribuindo esses altos índices de contaminação ao fato da fonte doadora de explantes ser mantida em casa de vegetação. Além da elevada contaminação, o referido autor constatou que as gemas obtidas nos explantes de discos foliares não se desenvolveram em plantas completas, concluindo que essa fonte de explante não foi eficiente no processo de regeneração in vitro de plantas de meloeiro amarelo.

Quanto à oxidação dos explantes, os maiores valores foram constatados no procedimento de desinfestação IV, no qual o material vegetal foi exposto à concentração mais alta de cloro ativo e ao maior tempo de exposição ao etanol 70%. De uma forma geral, os dados obtidos indicam que quanto maior a concentração de cloro ativo na solução desinfestante, e provavelmente o maior tempo de exposição ao etanol 70%, maior o índice de oxidação. Vieira et al. (2021) concluíram que, apesar da solução de hipoclorito de sódio e de etanol 70% mostrarem eficácia no controle da contaminação, quanto maior o tempo de imersão dos ápices caulinares de bananeira cv. Pacovan nessas soluções, maior a oxidação dos explantes, causando a perda deles. A utilização de concentrações mais elevadas e maior tempo de imersão dos explantes florais de cupuaçu na solução de hipoclorito de sódio proporcionou as menores taxas de contaminação; porém, danificaram os tecidos, provocando escurecimento e necrose, resultando na inibição do desenvolvimento e na morte dos explantes (Ferreira et al., 2009). Portanto, esses autores concluem que, tendo em vista a concentração e o tempo de exposição dos explantes às soluções desinfestantes variarem significativamente os índices de descontaminação e de oxidação, faz-se necessária a adequação do protocolo de desinfestação para o estabelecimento in vitro.

Oxidação em cultura de tecidos pode ser definida como o escurecimento de tecidos cortados que resulta da reação de compostos fenólicos liberados ao meio de cultivo, com o oxigênio (Carvalho et al., 2011). Segundo Barrueto-Cid e Teixeira (2010), o corte do explante com bisturi pode desencadear a oxidação fenólica, responsável pela cor marrom do explante.

Entre os trabalhos com cultura de tecidos de meloeiro, apenas Rhimi et al. (2006) se referem à oxidação. Esses autores utilizaram explantes de hipocótilo e cotilédone obtidos a partir da germinação *in vitro* de sementes, constatando que aqueles mantidos em meio de cultivo sem a adição de fitorregulador, durante três semanas, não exibiram desenvolvimento e posteriormente se tornaram marrons e necrosaram.

Foram estimadas correlações negativas significativas entre os percentuais de explantes oxidados e contaminados, indicando que essas variáveis são inversamente proporcionais. Portanto, o aumento da concentração de cloro na solução de desinfestação e o tempo de exposição ao etanol 70%, embora tenham sido eficientes na redução da contaminação, proporcionaram maior índice de oxidação dos explantes. Essa constatação reforça que o aumento da concentração do princípio ativo (ClO_2) não trouxe ganhos na viabilidade, pois, apesar de ter reduzido a porcentagem de contaminação, resultou no aumento da oxidação dos explantes. A alta concentração do agente desinfestante (NaClO) utilizada no estabelecimento *in vitro* de explantes de cacauzeiro possivelmente foi um fator considerável para os índices de oxidação apresentados (Reis, 2018). Semelhantes aos resultados obtidos, Pereira et al. (2011) constataram que o aumento da concentração de cloro ativo na solução de desinfestação ocasionou maior oxidação dos explantes de ápices caulinares de bananeira cv. Grande Naine.

Entretanto, considerando as correlações para cada tipo de explante, observou-se que não houve correlação significativa apenas para o explante de gavinha (Tabela 2). Esse comportamento possivelmente está diretamente relacionado com sua morfologia, por apresentar menor superfície de contato devido a sua forma filiforme e glabrescente, que pode ter contribuído para o menor nível de contaminação observado. Já para os explantes de gema apical e folha jovem, que possuem superfícies maiores e irregulares e grande quantidade de pelos, houve correlação significativa entre as variáveis. A maior concentração de NaClO e a prolongada exposição ao etanol 70% foram capazes de reduzir os contaminantes dos tecidos, mas foram mais prejudiciais também aos explantes. A posição e a superfície de contato, em relação ao meio de cultivo, interferem diretamente sobre a oxidação do explante. Pereira et al. (2020) constataram que a parte do ápice caulinar de bananeira que permanece em contato direto com o meio de cultivo tende a apresentar maior oxidação em relação ao restante do explante. Pereira (2020) verificou que

as extremidades excisadas dos segmentos nodais de mogno foram os locais que apresentaram maior oxidação, devido justamente ao contato dessas partes dos explantes com o oxigênio do ar no interior dos frascos.

Tabela 2. Análise de correlação entre contaminação e oxidação em explantes de meloeiro (*Cucumis melo* L. var *inodorus*) amarelo híbrido Goldex aos 60 dias de cultivo in vitro. Embrapa Agroindústria Tropical, 2016.

Explante	r *	Significância estatística
Gavinha	-0,26	p > 0,22
Gema apical	-0,66	p < 0,01
Folha jovem	-0,60	p < 0,01
Geral	-0,54	p < 0,01

* r = coeficiente de correlação de Spearman entre as variáveis contaminação e oxidação dos explantes.

Entretanto, considerando as correlações para cada tipo de explante, observou-se que não houve correlação significativa apenas para o explante de gavinha (Tabela 2). Sendo assim, a escolha do procedimento de desinfestação mais adequado deve levar em consideração tanto o índice de contaminação quanto o de oxidação, isto é, aquele que alia os menores índices desses dois parâmetros. Portanto, entre os explantes testados, os de gavinha, empregando-se o procedimento de desinfestação com imersão em etanol 70% durante 1 minuto, com posterior submersão em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) com 0,1% de cloro ativo por 7,5 minutos, seguido de três enxágues em água destilada e autoclavada, são os mais adequados para o estabelecimento da cultura in vitro do meloeiro do tipo amarelo híbrido Goldex.

Conclusões

O aumento da concentração de cloro ativo, na solução desinfestante, e maior tempo de exposição ao etanol 70%, resultam em menor porcentagem de contaminação e maior o índice de oxidação dos explantes de gema apical e folha jovem.

O percentual de contaminação é inversamente proporcional ao percentual de oxidação.

O explante de gavinha, utilizando-se o procedimento de desinfestação com imersão em etanol 70% durante 1 minuto, com posterior submersão em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) com 0,1% de cloro ativo por 7,5 minutos, seguido de três enxagues com água destilada e autoclavada, é o mais adequado para o estabelecimento da cultura in vitro do meloeiro amarelo híbrido Goldex.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida ao primeiro autor; e à Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT) pelo auxílio à pesquisa.

Referências

- AJURU, M. G.; OKOLI, B. E. The morphological characterization of the melon species in the family *Cucurbitaceae* Juss. and their utilization in Nigeria. **International Journal of Modern Botany**, v. 3, n. 2, p. 15-19, 2013. <https://doi.org/10.5923/j.ijmb.20130302.01>.
- BARRUETO CID, L. P.; JORDAN, M. Z. **A contaminação in vitro de plantas**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. 20 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 122).
- BARRUETO CID, L. P.; TEIXEIRA, J. B. Oxidação fenólica, vitrificação e variação somaclonal. In: BARRUETO CID, L. P. (ed.). **Cultivo in vitro de plantas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2010. Cap. 2, p. 53-64.
- CANAL DO HORTICULTOR. **Tendências**: conheça os diferentes mercados de melão. 2021. Disponível em: <https://canaldohorticultor.com.br/conheca-os-diferentes-mercados-de-meloos/>. Acesso em: 15 mar. 2022.
- CARDOSO JÚNIOR, I. M. **Cayaponia Silva Manso (*Cucurbitaceae* Juss.), no estado de Goiás**: uma abordagem morfológica e anatômica. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017. 145 p. Disponível em: <http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/7233>. Acesso em: 15 mar. 2022.

CARVALHO, A. C. P. P. de; TORRES, A. C.; BRAGA, E. J. B.; LEMOS, E. E. P. de; SOUZA, F. V. D.; PETERS, J. A.; WILLADINO, L.; CÂMARA, T. R. Glossário de cultura de tecidos de plantas. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v. 7, n. 1, p. 30-60, 2011. Disponível em: <http://pccm.ufla.br/index.php/plantcellculturemicropropagation/article/view/66>. Acesso em: 18 out. 2021.

CAVALCANTE, P. de F.; HOULLOU, L. M.; ALVES, G. D.; TORRES, G. R. de C.; SOUZA, R. A.; SOUZA, K. de A.; GREGÓRIO, S. H. Desenvolvimento in vitro de diferentes explantes de trapiá (*Crataeva tapia* L.). **SEMBIO Cadernos de Publicações de Eventos Científicos**, v. 5, n. 5, p. 41-47, 2015. Universidade do Estado da Bahia, Campus VIII.

CHOI, J. Y.; SHIN, J. S.; CHUNG, Y. S.; HYUNG, N. An efficient selection and regeneration protocol for Agrobacterium-mediated transformation of oriental melon (*Cucumis melo* L. var. *makuwa*). **Plant Cell and Tissue Organ Culture**, v. 110, p. 133-140, 2012. <https://doi.org/10.1007/s11240-012-0137-6>.

DONG, Y. Q.; ZHAO, W. X.; LI, X. H.; LIU, X. C.; GAO, N. N.; HUANG, J. H.; WANG, W. Y.; XU, X. L.; TANG, Z. H. Androgenesis, gynogenesis, and parthenogenesis haploids in cucurbit species. **Plant Cell Reports**, v. 35, n. 10, p. 1991-2019, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00299-016-2018-7>, 2016.

DHUMAL, S. S.; NAIK, B. V.; NIMBALKAR, M. S. Advances in tissue culture of Cucurbits: a review. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 9, n. 8, p. 2887-2910, 2020. <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2020.908.324>.

ESPOSITO-POLES, N. P.; ABREU-TARAZI, M. F.; ALMEIDA, C. V.; TSAI, S. M.; ALMEIDA, M. Investigation of endophytic bacterial community in supposedly axenic cultures of pineapple and orchids with evidence on abundant intracellular bacteria. **Current Microbiology**, v. 74, p. 103-113, 2017.

FAO. **Faostat**. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em: 11 mar. 2022.

FARIA, L. A.; ARA, T.; KARIM, R.; ISLAM, R.; HOSSAIN, M. Rapid in vitro clonal propagation of two hybrid muskmelon cultivars and their field evaluation in agro climatic condition of Bangladesh. **Journal of Genetic and Environmental Resources Conservation**, v. 1, n. 3, p. 247-253, 2013.

FERREIRA, M. das G. R.; SANTOS, M. R. A. dos; BRAGADO, A. C. R. Propagação in vitro de cupuaçuzeiro: desinfestação de explantes florais. **Saber Científico**, Porto Velho, v. 2, n. 2, p. 37-44, 2009.

FURQONI, H.; EFENDI, D. Somatic embryogenesis of melon (*Cucumis melo* L.) as affected by culture media and composition of plant growth regulators. **Journal of Tropical Crop Science**, v. 5, n. 3, p. 119-125, 2018. <http://dx.doi.org/10.29244/jtcs.5.3.119-125>.

GARCÍA-ALMODÓVAR, R. C.; GOSALVEZ, B.; ARANDA, M. A.; BURGOS, L. Production of transgenic diploid *Cucumis melo* plants. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 130, p. 323-333, 2017. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11240-017-1227-2>.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica: Embrapa Hortaliças, 1998. v. 1, p. 183-260.

GROZEVA, S. Y.; VELKOV, N. V.; IVANOCA, Z. V. In vitro plant regeneration of two *Cucumis melo* L. genotypes using different explant types and culture medium. **Ecologia Balkanica**, v. 11, n. 2, p. 193-202, 2019.

HOOGHVORST, I.; TORRICO, O.; HOOGHVORST, S.; NOGUÉS, S. In situ parthenogenetic doubled haploid production in melon "Piel de Sapo" for breeding purposes. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, article 378, 12 p., 2020. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00378>.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/melao/br>. Acesso em: 11 mar. 2022.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Sistema IBGE de Recuperação Automática** – SIDRA. 2021. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/1612>. Acesso em: 27 set. 2022.

OLIVEIRA, F. I. C. de. **Cultura de tecidos e cruzamentos interespecíficos visando obtenção de haploides em meloeiro**. Tese de doutorado (Fitotecnia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2018, 81p. <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/39074>.

MARCHI, Y. R. R.; FERNANDES, D. A. **Doses de hipoclorito e tempos de contato no estabelecimento in vitro de sementes de rosa do deserto (*Adenium obesum* Roem. & Schult. (Forssk.))**. Monografia, (TCC Agronomia), Centro Universitário de Várzea Grande-MT, 8 p. <https://www.repositoriodigital.univag.com.br/index.php/agro/article/view/577>.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.

NADERI, D.; ASKARI-KHORASGANI, O.; MAHMOUDI, E. Cefotaxime and benzyladenine improve melon regeneration. **Iranian Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 1, p. 56-60, 2016. <https://doi.org/10.15171/IJB.1077>.

NADERI, D.; MOUSAVI, A.; HABASHI, A. A.; LOFTI, A. M. Optimization of somatic embryogenesis induction in Iranian melon (*Cucumis melo* cv. Khatooni). **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 34, p. 6434-6438, 2011. <https://doi.org/10.5897/AJB10.1260>.

NADERI, D.; MAHMOUDI, E. In vitro regeneration of Iranian melon (*Cucumis melo* L. 'Samsoori') using antibiotic and benzyl adenine micropropagation of *Cucumis melo* L. 'Samsoori'. **International Journal of Horticultural Science and Technology**, v. 4, n. 1, p. 117-126, 2017. <https://dx.doi.org/10.22059/ijhst.2017.224186.165>.

NAVROSKI, M. C. **Multiplicação in vitro de genótipos de *Eucalyptus dunnii* Maiden**. Tese de mestrado (Engenharia Florestal), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria- RS. 2011. 101 p. <http://repositorio.ufsm.br/handle/1/8676>.

PARVIN, S.; KAUSAR, M.; ENAMUL HAQUE, M.; KHALEKUZZAMAN, M.; SIKDAR, B.; ASADUL ISLAM, M. In vitro propagation of muskmelon (*Cucumis melo* L.) from nodal segments, shoot tips and cotyledonary nodes. **Rajshahi University Journal of Life & Earth and Agricultural Sciences**, v. 41, p. 71-77, 2013. <https://doi.org/10.3329/rujleas.v41i0.21627>.

PERAITA, V. A. **Sistemas de alto rendimiento en la regeneración in vitro de melón y pepino**. Tese de mestrado (Biotecnología Molecular y Celular de Planta), Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, Espanha, 2016. 52 p. <https://riunet.upv.es/handle/10251/76819>.

PEREIRA, G. A.; CORREA, L. de S.; BOLIANI, A. C. Desinfestação e estabelecimento in vitro de explantes de bananeira 'Grande Naine' em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. E., p. 222-226, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452011000500026>.

PEREIRA, W. P. Estabelecimento in vitro de *Swietenia macrophylla* King em cultura de tecidos vegetais. In: **Floricultura, plantas ornamentais e cultura de tecidos de plantas**. SILVA-MATOS, R. R. S. da; OLIVEIRA, A. R. F.; ALBANO-MACHADO, F. G. (Eds.). Atena Editora, Ponta Grossa, PR, 2020. Capítulo 12. p. 117-128. <https://educapes.capes.gov.br/handle/capes/563954>.

PROBOWATI, W.; DARYONO, B. S. Callus Induction and differentiation on melon from In vitro culture with the addition of indole acetic acid and benzyl amino purine growth regulator. **Planta Tropika: Jurnal Agrosains (Journal of Agro Science)**, v. 6, n. 1, p. 15-21, 2018 <https://doi.org/10.18196/pt.2018.076.15-21>.

RAHMAN, H.; SHAHINOZZAMAN, M.; REZAUL KARIM, M.; AMINUL HOQUE, M.; MONZUR HOSSAIN, M.; RAFIUL ISLA, A. K. M. Rapid in vitro clonal propagation of a hybrid muskmelon (*Cucumis melo* L.) cultivar from seedling explants. **International Journal of Agronomy and Agricultural Research**, v. 2, n. 1, p. 47-52, 2012.

RAJI, M. R.; FATAJPOUR, M. Genetic fidelity of regenerated plants via shoot regeneration of muskmelon by inter simple sequence repeat and flow cytometry. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 20, n. 2, p. 88-93, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2020.12.003>.

RAJI, M. R.; LOTFI, M.; TOHIDFAR, M.; ZAHEDI, B.; CARRA, A.; ABBATE, L. CARIMI, F. Somatic embryogenesis of muskmelon (*Cucumis melo* L.) and genetic stability assessment of regenerants using flow cytometry and ISSR markers. **Protoplasma**, v. 255, p. 873-888, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00709-017-1194-9>.

REIS, E. O. **Testes para desinfestação de explantes do cacauzeiro visando estabelecimento in vitro**. Monografia (Agronomia – Fitotecnica), Universidade Federal do Ceará, 2018. 36p. <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/35428>.

REIS, L.; AYUB, R. A.; PEREIRA-NETTO, A. B.; CARVALHO, T. C. de. Combinações hormonais na organogênese cotiledonar do meloeiro cv. Eldorado 300. **Revista Cultivando o Saber**, v. 12, n. 4, p. 66-76, 2019.

REN, Y.; BANG, H.; CURTIS, I. S.; GOULD, J.; PATIL, B. S.; CROSBY, K. M. Agrobacterium-mediated transformation and shoot regeneration in elite breeding lines of western shipper cantaloupe and honeydew melons (*Cucumis melo* L.). **Plant Cell and Tissue Organ Culture**, v. 108, p. 147-158, 2012. <http://dx.doi.org/10.1007/s11240-011-0024-6>.

REN, Y.; BANG, H.; GOULD, J.; RATHORE, K. S.; PATIL, B. S.; CROSBY, K. M. Shoot regeneration and ploidy variation in tissue culture of honeydew melon (*Cucumis melo* L. *inodorus*). **In vitro Cell & Developmental Biology-Plant**, v. 49, p. 223-229, 2013. <http://dx.doi.org/10.1007/s11627-012-9482-8>.

RHIMI, A.; BEM FADHEL, N. B.; BOUSSAID, M. Plant regeneration via somatic embryogenesis from in vitro tissue culture in two Tunisian *Cucumis melo* cultivars Maazoun and Beji. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 84, p. 239-243, 2006. <http://dx.doi.org/10.1007/s11240-005-9021-y>.

SEBASTIANI, M. S.; FICCADENTI, N. In vitro plant regeneration from cotyledonary explants of *Cucumis melo* L. var. *cantalupensis* and genetic stability evaluation using RAPD analysis. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 124, n. 1, p. 69-79, 2016. <http://dx.doi.org/10.1007/s11240-015-0875-3>.

SOUZA, A. da S.; COSTA, M. A. P. de C.; SANTOS-SEREJO, J. A. dos; JUNGHANS, T. G.; SOUZA, F. V. D. Introdução à cultura de tecidos de plantas. In: SOUZA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (Eds.). **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, p. 11-37, 2006a.

SOUZA, F. V. D.; JUNHANS, T. G.; SOUZA, A. da S.; SANTOS-SEREJO, J. A. dos; COSTA, M. A. P. de C. Micropropagação. In: SOUZA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (Eds.). **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, p. 38-52, 2006b.

STIPP, L. C. L. **Cultura de tecidos em melão amarelo (*Cucumis melon* L. var. *inodorus* Naudin)**: organogênese in vitro e embriogênese somática. Dissertação de mestrado (), Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, 200, 63 p. <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11136/tde-20191218-130520/publico/StippLilianeCristinaLiborio.pdf>.

STIPP, L. C. L.; MENDES, B. M. J.; PIEDADE, S. M. D. S.; RODRIGUEZ, A. P. M. In vitro morphogenesis of *Cucumis melo* var. *inodorus*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. v. 65, p. 81-89, 2001. <https://doi.org/10.1023/A%3A1010684922210>.

TEKDAL, D.; CETINER, S. The effects of different combinations and varying concentrations of growth regulators on the regeneration of selected Turkish cultivars of melon. In: SILVA-OPPS, M. (ed.) **Current Progress in and Biological Biological Research, Agricultural Sciences**, InTech, Croatia, capítulo 11, p. 257-275, 2013. <https://doi.org/10.5772/55455z>.

THOMAS, P.; ASWATH, C. Alcohol-mediated horizontal spread of bacillus spores and assessing the recurrent sterilization needs of culture-handling tools contaminated with hardy spores. **Proceedings National Academy of Sciences**, v. 83, p. 207-213, 2013.

VENKATESHWARLU, M. Direct multiple shoots proliferation of muskmelon (*Cucumis melo* L.) from shoot tip explants. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 3, n. 2, p. 645-652, 2012.

VIEIRA, M. R. S.; SILVESTIM, E. G.; LIMA FILHO, A. A. de; LOPES, A. B.; SILVESTIM, F. G. Métodos de assepsia na multiplicação in vitro da bananeira 'Pacovan' (*Musa* spp.) **Research, Society and Development**, v. 10, n. 16, e291101623765, 2021. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i16.23965>.

YADAV, R. C.; GRUMET, R. Tendrils as an alternate tissue source for chromosome visualization. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 119, n. 4, p. 850-852, 1994.

YASHIRO, K.; HOSOYA, K.; KUZUYA, M.; TOMITA, K.; EZURA, H. Efficient production of doubled haploid melon plants by modified colchicine treatment of parthenogenetic haploids. **Acta Horticulturae**, v. 588, p. 335-338, 2002. <http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2002.588.54>.

ZHANG, H.; GAO, P.; WANG, X.; LUAN, F. An improved method of *Agrobacterium tumefaciens*-mediated genetic transformation system of melon (*Cucumis melo* L.). **Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology**, v. 23, n. 3, p. 278-283, 2014. <http://dx.doi.org/10.1007/s13562-013-0211>.



Agroindústria Tropical

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



CGPE 017810