

Fortaleza, CE / Outubro, 2025



Reguladores de crescimento na indução de calos em gavinhas de melão amarelo híbrido Goldex

Frederico Inácio Costa de Oliveira⁽¹⁾, Alexya Vitoria Felix Carvalho⁽²⁾, Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho⁽³⁾ e Fernando Antonio Souza de Aragão⁽⁴⁾

⁽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, Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE. ⁽³⁾ Bióloga, doutora em Genética, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), Fortaleza, CE. ⁽⁴⁾ Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitotecnia, pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), Fortaleza, CE.

Resumo – A cultura do meloeiro tem grande importância socioeconômica, especialmente no Nordeste. Nos programas de melhoramento genético de meloeiro, que dependem da utilização de técnicas biotecnológicas, é indispensável o desenvolvimento de métodos eficientes de regeneração in vitro de plantas. Objetivou-se estudar o efeito de auxinas e citocininas, isoladas e combinadas adicionadas ao meio MS, na indução de calos, em segmentos apicais de gavinhas de meloeiro amarelo híbrido Goldex. Dois experimentos foram conduzidos, em delineamento inteiramente casualizado, com 25 repetições por tratamento. No primeiro experimento, em esquema fatorial 3 x 3, os tratamentos foram gerados pelas concentrações de 6-furfurilaminopurina – CIN (0; 3 e 6 mg L⁻¹) e ácido indolacético – AIA (0; 3 e 6 mg L⁻¹), adicionadas ao meio de cultivo MS. No segundo experimento, foram testados seis tratamentos: MS sem regulador de crescimento; MS + 0,20 mg L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BAP); MS + 0,20 mg L⁻¹ de ácido naftalenoacético (ANA); MS + 0,45 mg L⁻¹ de ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D); MS + 0,20 mg L⁻¹ de BAP + 0,20 mg L⁻¹ de ANA; e MS + 0,20 mg L⁻¹ de BAP + 0,45 mg L⁻¹ de 2,4-D. Aos 60 dias após a inoculação dos explantes, foram avaliadas a porcentagem de indução, a intensidade de oxidação, a coloração, a textura, a área e a massa fresca dos calos, bem como a correlação entre essas duas últimas características. As auxinas (AIA, ANA e 2,4-D) e as citocininas (CIN e BAP) induzem calogênese em maior área em gavinhas, em especial em combinação, sendo a mais adequada 0,20 mg L⁻¹ de BAP + 0,20 mg L⁻¹ de ANA. Nesta combinação, os calos apresentaram coloração verde, textura friável e baixa oxidação. Constatou-se forte correlação entre massa fresca e área dos calos formados nas gavinhas. Este estudo contempla o primeiro relato do estabelecimento de um protocolo de indução de calos em explantes de gavinha em meloeiro.

Termos para indexação: *Cucumis melo* L., cultura de tecidos vegetais, calogênese.

Growth regulators in the induction of callus in tendrils of hybrid yellow melon Goldex

Abstract – Melon crop has great socioeconomic importance, especially in

Embrapa Agroindústria Tropical

Rua Pernambuco, 2.270, Pici
60.511-110 Fortaleza, CE
www.embrapa.br/agroindustria-tropical
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações

Presidente

José Roberto Vieira Junior

Secretária-executiva

Celli Rodrigues Muniz

Membros

Afrânio Arley Teles Montenegro,

Aline Saraiva Teixeira, Eveline de

Castro Menezes,

Francisco Nelsieudes Sombra

Oliveira, Helenira Ellery Marinho

Vasconcelos, Kirley Marques

Canuto, Laura Maria Bruno,

Marlon Vagner Valentim Martins,

Pablo Busatto Figueiredo,

Roselayne Ferro Furtado e

Sandra Maria Morais Rodrigues

Edição executiva

Celli Rodrigues Muniz

Revisão de texto

José Cesamildo Cruz Magalhães

Normalização bibliográfica

Rita de Cassia Costa Cid

(CRB-3/624)

Projeto gráfico

Leandro Sousa Fazio

Diagramação

José Cesamildo Cruz Magalhães

Publicação digital: PDF

Todos os direitos reservados à Embrapa.

the Northeast. In melon genetic breeding programs, which depend on the use of biotechnological techniques, the development of efficient in vitro plant regeneration methods is essential. The objective was to study the effect of auxins and cytokinins, isolated and combined, added to the MS medium, on callus induction in tendrils of the hybrid Goldex yellow melon. Two experiments were conducted, in a completely randomized design, with 25 replications per treatment. In the first experiment, in a 3 x 3 factorial scheme, the treatments were the concentrations of 6-furfuryl-aminopurine – KIN (0; 3 and 6 mg L⁻¹) and indolylacetic acid – IAA (0; 3 and 6 mg L⁻¹), added to the MS culture medium. In the second experiment, six treatments were tested: MS without growth regulator; MS + 0.20 mg L⁻¹ of 6-benzylaminopurine (BAP); MS + 0.20 mg L⁻¹ of naphthaleneacetic acid (NAA); MS + 0.45 mg L⁻¹ of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D); MS + 0.20 mg L⁻¹ of BAP + 0.20 mg L⁻¹ of NAA; and MS + 0.20 mg L⁻¹ of BAP + 0.45 mg L⁻¹ of 2,4-D. At 60 days after explant inoculation, the following characteristics were evaluated: percentage of induction, oxidation intensity, color, texture, area and fresh mass of the callus, as well as the correlation between these last two characteristics. Auxins (IAA, NAA and 2,4-D) and cytokinins (KIN and BAP) induce callogenesis in larger area in tendrils, especially in combination, the most appropriate being 0.20 mg L⁻¹ of BAP + 0.20 mg L⁻¹ of NAA. In this combination, the calluses showed a green color, friable texture and low oxidation. A strong correlation was between fresh mass and the area of calluses formed on the tendrils. This study includes the first report on establishment of callus induction protocol in melon tendril explants.

Index terms: *Cucumis melo* L., plant tissue culture, callogenesis.

Introdução

Cultivares comerciais de meloeiro (*Cucumis melo* L.) são, em sua maioria, híbridos F₁ devido às características superiores. O meloeiro amarelo híbrido Goldex é uma planta bastante vigorosa, produtiva e com boa rusticidade, seus frutos possuem excelente sabor, ótima pós-colheita e alto valor de °Brix, sendo ideal para exportação (Plantseed, 2025).

Entretanto, por meio das técnicas convencionais de melhoramento, a geração de linhagens puras requer trabalho intenso, tecnologia e recursos significativos, devido às sucessivas rodadas de autofecundação e retrocruzamentos (Kurtar et al., 2020).

Em cucurbitáceas, plantas haploides e di-haploides são obtidas por meio de três processos

diferentes: partenogênese haploide in situ; ginogênese in vitro e androgênese in vitro. Porém, para a aplicação dessas técnicas biotecnológicas nos programas de melhoramento genético, é de fundamental importância que sejam desenvolvidos protocolos eficientes de obtenção de plantas, por cultura de tecidos. Sendo assim, a disponibilidade de um sistema eficaz de regeneração in vitro, em meloeiro, é indispensável para a aplicação das técnicas biotecnológicas adequadas (Tekdal; Cetiner, 2013; Probawati; Daryono, 2018).

Em meloeiro, diversos estudos (Ren et al., 2013; Tekdal; Cetiner, 2013; Narayan, 2015; Naderi et al., 2016; Peraita, 2016; Probawati; Daryono, 2018; Ullah et al., 2023) revelam uma grande variação nas respostas morfogenéticas in vitro, indicando que diversos fatores podem afetar a eficiência dos protocolos, tais como genótipo, fonte de explante, tipos e concentrações dos fitorreguladores, condições de cultivo e fatores físicos.

Em meloeiro, a regeneração ocorre principalmente via organogênese indireta, sendo os explantes mais utilizados cotilédone, epicótilo, hipocótilo, folha, pecíolo, gema apical, nó cotiledonar e segmento nodal. Apesar de vários genótipos e tipos de explantes já terem sido testados, a eficiência de regeneração in vitro de plantas em meloeiro é muito baixa (Zhang et al., 2014). A regeneração via organogênese direta ou indireta depende de diferentes fatores relacionados com o genótipo, a fonte do explante, o meio de cultivo utilizado e as condições ambientais de cultivo. Sendo assim, Zhang et al. (2014) sugerem a seleção de diferentes fontes de explantes como indicativo para superar o entrave da forte genótipo-dependência. Visando à busca de fontes alternativas de explantes, constatou-se que não há relato na literatura do uso de gavinha na cultura de tecidos de meloeiro. Entretanto, tendo em vista que este tipo de explante é um órgão diferenciado, a gavinha necessita passar por uma etapa de desdiferenciação para alcançar uma rota de regeneração in vitro de plantas, e, para isso, recorre à organogênese indireta, passando pela fase de calo.

Oliveira et al. (2022) relatam que o explante de gavinha é o mais adequado para o estabelecimento da cultura in vitro do meloeiro amarelo híbrido Goldex, em comparação aos de folha jovem e gema apical, por apresentar menor índice de contaminação após o procedimento de desinfestação. Além disso, tecidos com alta taxa de crescimento, como gavinhas, podem ser promissores para a indução de calogênese. Na seleção de explantes, teoricamente, qualquer tecido pode ser utilizado, tendo em vista a totipotência das células vegetais; entretanto,

na prática, recomenda-se o uso de explantes que contenham maior proporção de tecido meristemático ou que tenham maior capacidade de crescimento (Grattapaglia; Machado, 1998).

Em relação ao meio de cultura, todos os estudos anteriormente citados com organogênese in vitro de meloeiro fazem uso do meio de Murashige e Skoog (1962), conhecido como MS. E, quanto aos fitorreguladores, 6-benzilaminopurina (BAP) e 6-furfurilaminopurina (CIN) são as citocininas (Ren et al., 2012), e 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) e α -ácido naftalenoacético as auxinas (Guo et al., 2011) mais utilizadas, podendo ser usadas de forma combinada ou não. As faixas de concentração testadas variam em função do tipo de fitorregulador: BAP (0,1 mg L⁻¹ a 2,0 mg L⁻¹), CIN (0,5 mg L⁻¹ a 6,0 mg L⁻¹), 2,4-D (0,01 mg L⁻¹ a 2,0 mg L⁻¹) e ANA (0,05 mg L⁻¹ a 3,0 mg L⁻¹).

Nesse contexto, objetivou-se com este trabalho estudar o efeito de auxinas e citocininas, isoladas e combinadas, adicionadas ao meio MS, na indução de calos em explantes de gavinha de meloeiro amarelo híbrido Goldex.

Material e métodos

Dois experimentos foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Agroindústria Tropical, em Fortaleza, Ceará, no período de junho a outubro de 2016.

Nos dois experimentos, foram utilizados como explantes segmentos apicais de gavinhas obtidos de plantas de meloeiro (*Cucumis melo* L. var *inodorus*) amarelo híbrido Goldex cultivadas em casa de vegetação. Segmentos de ápice de gavinha, com aproximadamente 1,0 cm de comprimento, foram coletados no período da manhã de plantas em estágio de florescimento.

Em capela de fluxo laminar, os explantes foram desinfestados com solução de álcool 70% por 1 minuto, a seguir em solução de hipoclorito de sódio (cloro ativo 0,1%) por 7,5 minutos e, depois, passaram por três enxágues com água destilada autoclavada, por 1 minuto em cada enxágue, de acordo com a recomendação de Oliveira et al. (2022).

O meio de cultivo utilizado foi o MS (Murashige; Skoog, 1962), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose e solidificado com ágar (Gelzan) a 1,8 g L⁻¹, com a adição ou não dos fitorreguladores, de acordo com os tratamentos. As gavinhas foram inoculadas individualmente em tubos de ensaio de 150 x 25 mm, contendo 10 mL do meio de cultivo, e mantidas em sala de crescimento, a 25 ± 1 °C, sob

fotoperíodo de 16 horas de luz e intensidade luminosa de 30 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com 25 repetições por tratamento, sendo cada unidade experimental formada por um tubo de ensaio contendo um explante. No primeiro experimento, utilizou-se o esquema fatorial 3 x 3, cujos tratamentos foram obtidos pela combinação entre as concentrações de 6-furfurilaminopurina (CIN) (0,0; 3,0 e 6,0 mg L⁻¹) e as de ácido indolacético (AIA) (0,0; 3,0 e 6,0 mg L⁻¹), adicionadas ao meio de cultivo MS, de acordo com Moreno et al. (1985).

No segundo experimento, o delineamento foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos, que consistiram: T1 (MS₀) – MS sem regulador de crescimento; MS com regulador de crescimento, sendo T2 (MS_{0,20B}) – 0,20 mg L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BAP); T3 (MS_{0,20A}) – 0,20 mg L⁻¹ de ácido naftalenoacético (ANA); T4 (MS_{0,45D}) – 0,45 mg L⁻¹ de ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D); T5 (MS_{0,20B;0,20A}) – 0,20 mg L⁻¹ de BAP e 0,20 mg L⁻¹ de ANA; e T6 (MS_{0,20B;0,45D}) – 0,20 mg L⁻¹ de BAP e 0,45 mg L⁻¹ de 2,4-D, de acordo com Probawati e Daryono (2018).

Aos 60 dias após a inoculação dos segmentos apicais de gavinha, foi observada a porcentagem de indução de calos. Nos calos obtidos, foram avaliadas as variáveis: intensidade de oxidação (baixa, até um terço da massa calosa oxidada; média, de um terço a dois terços de massa calosa oxidada; e alta, de dois terços da massa calosa oxidada a calos completamente oxidados), de acordo com a metodologia de Oliveira (2018); coloração predominante (verde e bege); textura predominante (compacta e friável), área (mm²); e massa fresca (mg). A textura do calo foi considerada compacta quando era rígida e o calo não se fragmentava ao ser tocado com a pinça; e friável quando o calo se desagregava facilmente ao ser encostado com a pinça.

Os dados das variáveis dos dois experimentos foram submetidos ao teste de normalidade, efetuando-se, quando necessário, a transformação pelo método de Box-Cox. Assim, realizou-se análise de variância (ANOVA) e, em seguida, o agrupamento das médias pelo teste Scott-Knott, utilizando-se o sistema computacional livre SAS. Para as variáveis em que não foi possível a transformação, aplicou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Adicionalmente, foram obtidas as estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis área e massa fresca dos calos, bem como os modelos de regressão linear. Para as demais variáveis, procedeu-se à estatística descritiva.

Resultados e discussão

No primeiro experimento, houve efeito significativo ($P \leq 0,05$) para a área e a massa fresca dos calos em função das combinações de 6-furfurilaminopurina (CIN) e ácido indolacético (AIA) adicionadas ao meio de cultivo, aos 60 dias após a inoculação in vitro dos segmentos apicais de gavinhas (Tabela 1).

No meio de cultivo MS sem a presença de reguladores de crescimento, ocorreu o menor índice de formação de calos nas gavinhas de meloeiro, 35,29% (Tabela 1). Resultados semelhantes foram

observados por Probawati e Daryono (2018), registrando pequena formação de calos nos cotilédones da linhagem F₂ do cruzamento entre Yamatouri x Vankharman, cultivados neste meio de cultivo (MS), sem a adição de fitorreguladores. Moreno et al. (1985) mencionam que os explantes de hipocótilo e cotilédone da variedade Amarillo Oro de meloeiro podem formar calos em meios de cultivo contendo diferentes combinações de reguladores de crescimento, isto é, existe uma ampla variedade de concentrações dessas substâncias, em que a calogênese pode ocorrer, mesmo em meios sem a adição de uma auxina exógena.

Tabela 1. Porcentagem de indução de calos, área e massa fresca de calos obtidos em segmentos apicais de gavinhas de meloeiro (*Cucumis melo* L. var *inodorus*) amarelo híbrido Goldex em meio de cultivo MS com diferentes concentrações de 6-furfurilaminopurina (CIN) e ácido indolacético (AIA), aos 60 dias após a inoculação in vitro.

Tratamento	Concentração (mg L ⁻¹)		IC (%) ¹	Área (mm ²) ²	Massa fresca (mg) ²
	AIA	CIN			
MS _{0,0}	–	–	35,29	23,27 ± 3,77 c ¹	25,50 ± 4,44 c
MS _{3,0}	3,0	–	81,25	79,25 ± 8,87 b	161,88 ± 22,54 b
MS _{6,0}	6,0	–	86,21	53,90 ± 5,28 b	117,80 ± 14,77 b
MS _{0,3}	–	3,0	100,0	61,96 ± 4,29 b	141,35 ± 24,22 b
MS _{3,3}	3,0	3,0	100,0	185,90 ± 14,55 a	657,34 ± 80,61 a
MS _{3,6}	3,0	6,0	96,67	192,48 ± 12,95 a	718,61 ± 66,43 a
MS _{0,6}	–	6,0	72,73	69,22 ± 8,05 b	142,20 ± 8,81 b
MS _{6,3}	6,0	3,0	100,0	166,08 ± 12,29 a	636,04 ± 61,48 a
MS _{6,6}	6,0	6,0	100,0	152,59 ± 16,69 a	572,41 ± 86,49 a

¹IC (%) = Porcentagem de indução de calos.

²Médias ± erro-padrão seguidos da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente segundo o teste de Kruskal-Wallis ($P \leq 0,05$).

Diferentemente dos resultados obtidos no presente estudo, não ocorreu a formação de calos nos explantes de folha e de segmentos nodais (Ullah et al., 2023) e de cotilédone da variedade Naudin (Mendi et al., 2010); das variedades Maa-zoun e Beji (Awatef; Mohamed, 2013); das variedades Hasanbey e Cinikiz (Tekdal; Cetiner, 2013); e da variedade Gorgab (Naderi et al., 2016) de meloeiros cultivados em meio de cultivo sem a adição de reguladores de crescimento. Probawati e Daryono (2018) ressaltam que a calogênese, mesmo na ausência dessas substâncias, indica que o nível endógeno de hormônios pode sofrer alteração durante o desenvolvimento in vitro dos explantes de meloeiro.

Os fitorreguladores AIA e CIN, utilizados isoladamente ou em combinação, independentemente

da concentração, promoveram a formação de calos nas gavinhas de meloeiro (Tabela 1). Porém, em explantes de cotilédone das variedades Hasanbey e Cinikiz, a calogênese só ocorreu quando esses mesmos reguladores de crescimento foram empregados conjuntamente, nas concentrações de 5,0 mg L⁻¹ e 2,5 e 5,0 mg L⁻¹, respectivamente (Tekdal; Cetiner, 2013). Moreno et al. (1985) ressaltam que o tipo de explante utilizado para o estabelecimento do cultivo in vitro de meloeiro é um importante fator que afeta a resposta morfogênica. As maiores porcentagens de indução, bem como as áreas e massas fresca superiores dos calos, foram registradas quando as gavinhas foram mantidas nos meios de cultivo suplementados com as combinações de ambos reguladores de crescimento, CIN e

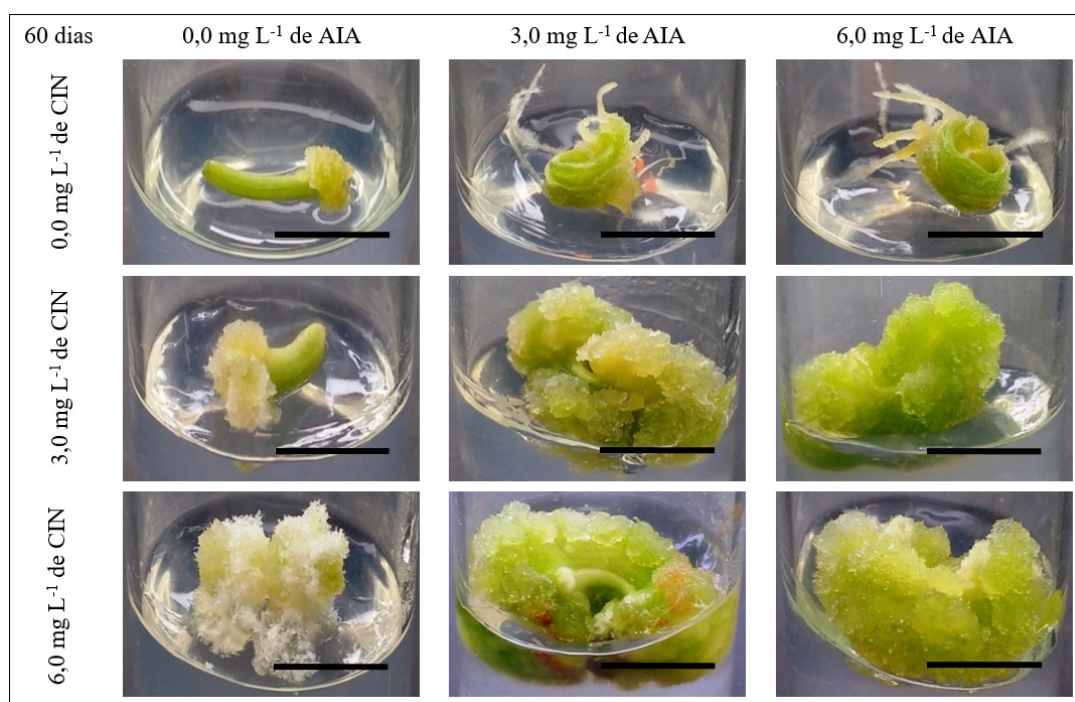
AIA (Tabela 1, Figura 1). Esses resultados ratificam a teoria do balanço hormonal, a qual preconiza que concentrações próximas de auxina e citocinina favorecem a calogênese (Taiz et al., 2017). Produção máxima de calogênese também foi registrada em cotilédones no meio de cultivo suplementado com auxinas e citocininas, em meloeiro variedade Naudin, nos meios de cultura contendo BAP (0,5; 1,0

e 2,0 mg L⁻¹) combinado com AIA (0,1 e 0,5 mg L⁻¹) (Mendi et al., 2010), e nas variedades Hasanbey e Cinikiz na combinação ANA (0,5 mg L⁻¹) mais CIN (2,5 e 5,0 mg L⁻¹) (Tekdal; Cetiner, 2013).

Nos tratamentos que formaram calos, estes apresentaram coloração bege e verde, intensidade de oxidação variando de baixa a média e textura predominantemente compacta (Tabela 2).

Tabela 2. Aparência e textura em calos obtidos em segmentos apicais de gavinhas de meloeiro (*Cucumis melo* L. var *inodorus*) amarelo híbrido Goldex, em meio de cultivo MS com diferentes concentrações de 6-furfurilaminopurina (CIN) e ácido indolacético (AIA), aos 60 dias após a inoculação in vitro.

Tratamento	Concentração (mg L ⁻¹)		Cor (%)		Intensidade de oxidação (%)			Textura (%)	
	AIA	CIN	Bege	Verde	Baixa	Média	Alta	Compac-ta	Friável
MS _{0,0}	—	—	52,94	47,06	29,41	20,59	50,00	100	0
MS _{3,0}	3,0	—	40,63	59,38	62,50	21,88	15,63	100	0
MS _{6,0}	6,0	—	34,48	65,52	82,76	6,90	10,34	100	0
MS _{0,3}	—	3,0	6,90	93,10	65,52	34,48	0,00	100	0
MS _{3,3}	3,0	3,0	3,45	96,55	75,00	21,43	3,57	100	0
MS _{3,6}	3,0	6,0	6,67	93,33	80,00	16,67	3,33	100	0
MS _{0,6}	—	6,0	59,38	40,63	81,25	3,13	15,63	100	0
MS _{6,3}	6,0	3,0	3,33	96,67	23,33	76,67	0,00	100	0
MS _{6,6}	6,0	6,0	3,70	96,30	44,44	51,85	3,70	100	0



Fotos: Frederico Inácio Costa de Oliveira

Figura 1. Segmentos apicais de gavinha de meloeiro (*Cucumis melo* L. var *inodorus*) amarelo híbrido Goldex, 60 dias após a inoculação in vitro em meio de cultivo MS com diferentes concentrações de 6-furfurilaminopurina (CIN) e ácido indolacético (AIA). Barra = 10,0 mm.

A coloração predominante nos calos de gavinha de meloeiro, nos meios de cultivo contendo ambos fitorreguladores, CIN e AIA, foi a verde (Tabela 2). Entretanto, de acordo com relatos da literatura científica, a coloração dos calos formados nos cotilédones de meloeiro pode ser desde branca (Tekdal; Cetiner, 2013), creme (Peraíta, 2016), amarela (Tekdal; Cetiner, 2013) até verde (Peraíta, 2016; Probowati; Daryono, 2018). Calos de coloração branca e amarela foram registrados por Tekdal e Cetiner (2013) em cotilédones da variedade Hasanbey cultivados no meio de cultivo sem a adição de fitorreguladores. Já a cor creme foi verificada por Peraíta (2016) em calos formados em cotilédones da variedade Cantaloup Charentais formados na combinação de AIA ($0,05 \text{ mg L}^{-1}$) e BAP ($2,0 \text{ mg L}^{-1}$). Calos de coloração verde foram constatados em explantes de cotilédone da variedade Cantaloup Charentais regenerados em meio de cultivo contendo a combinação de AIA ($0,05 \text{ mg L}^{-1}$) e BAP ($2,0 \text{ mg L}^{-1}$) por Peraíta (2016), e em cotilédones da linhagem F₂ do cruzamento Yamatouri x Vankharman cultivados em meio contendo apenas BAP (de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ a $2,00 \text{ mg L}^{-1}$) por Probowati e Daryono (2018).

A intensidade de oxidação dos calos nos segmentos apicais de gavinha de meloeiro variou de baixa a média (Tabela 2). Metade dos calos mantidos em meio de cultivo MS sem a adição de reguladores de crescimento apresentaram de dois terços a todo o tecido do calo escurecido. Constatou-se, também, que os meios de cultivo suplementados com CIN e AIA apresentaram menor intensidade de oxidação (Tabela 2). São poucos os trabalhos que relatam a avaliação de oxidação no cultivo *in vitro* de explantes de cucurbitáceas. A oxidação é uma reação indesejável na cultura de tecidos, pois leva ao escurecimento de tecidos cortados, que resulta da reação de compostos fenólicos liberados ao meio de cultivo, com o oxigênio (Carvalho et al., 2011).

Em relação à textura, a compacta foi a prevalente (Tabela 2). Probowati e Daryono (2018) constataram a formação de calos de coloração verde e textura compacta cobrindo toda a superfície dos explantes cotiledonares da linhagem F₂ do cruzamento entre Yamatouri x Vankharman. Peraíta (2016) observou que os calos formados nos cotilédones da cultivar de meloeiro Cantaloup Charentais, 25 dias depois do estabelecimento *in vitro*, apresentavam dois tipos: coloração creme com textura friável e coloração verde com textura compacta, ocorrendo formação de gemas apenas neste último tipo. Caso esta observação de Peraíta (2016) se suceda nos calos de gavinha, a presença da coloração verde e da textura compacta possa ser indicativo de

possibilidade de regeneração de plantas, a partir desta fonte alternativa de explante.

No segundo experimento, diferentemente do primeiro, a indução de calogênese só ocorreu nas gavinhas cultivadas nos meios de cultivo contendo a adição de auxina e citocinina, isoladamente ou em combinação (Tabela 3). Provavelmente a diferença na porcentagem de formação de calos entre os dois experimentos seja devido às condições fisiológicas dos segmentos apicais de gavinha. Apesar da fonte de explante utilizada ter sido a mesma, os segmentos apicais de gavinha foram excisados das mesmas plantas matrizes em épocas diferentes, tendo em vista que os dois experimentos não foram conduzidos simultaneamente.

No meio adicionado apenas de $0,20 \text{ mg L}^{-1}$ BAP, houve formação de calos em 92,31% das gavinhas (Tabela 3). Mendi et al. (2010) verificaram que nos meios de cultivos MS adicionados desta mesma citocinina, nas concentrações de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ e $2,0 \text{ mg L}^{-1}$, ocorreu, respectivamente, calogênese em 100% e 98% dos cotilédones estabelecidos *in vitro*.

No presente estudo, demonstrou-se a interação entre auxinas e citocinina no processo de desdiferenciação, isto é, formação de calos nos tecidos de gavinha, sob condições *in vitro* (Tabelas 1 e 3). A auxina testada (ANA), quando combinada com BAP, proporcionou as maiores massas de calos (Tabela 3). Embora o meio de cultivo adicionado apenas da citocinina testada (BAP, na concentração de $0,20 \text{ mg L}^{-1}$) também tenha registrado calos com áreas e massa fresca expressivas, esses calos apresentaram aproximadamente $1,10 \text{ g}$ (Tabela 3), enquanto os calos formados nos explantes de cotilédone, em concentrações superiores de BAP, $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ e $1,5 \text{ mg L}^{-1}$, alcançaram $3,82$ e $2,7 \text{ g}$, respectivamente (Naderi et al., 2016). Quanto à coloração, todos os calos de gavinha eram verdes e a maioria friáveis, enquanto que os calos formados nos explantes de cotilédone, embora também friáveis, apresentaram coloração branca (Naderi et al., 2016).

Méndez (2020) ratifica a importância da suplementação do meio de cultivo com a auxina (2,4-D) para a indução de calos em meloeiro das variedades Pele de Sapo, Amarelo e Gália. Os dados obtidos no presente estudo confirmam a importância da adição de 2,4-D ao meio de cultivo para a formação de calos. Os segmentos apicais de gavinha, cultivados no meio MS sem a adição de fitorreguladores, formaram 35,29% (Tabela 1) e 0% (Tabela 3) no primeiro e segundo experimentos, respectivamente. Enquanto a adição desta auxina resultou em

73,33% de formação de calos nos explantes (Tabela 3). Por outro lado, Asadi et al. (2018) ressaltam que, apesar da necessidade da adição de uma auxina ao meio de cultivo para a proliferação de calos, as concentrações de 2,4-D possuem efeito menos relevante do que as de BAP, indicando que a organogênese é fortemente dependente da concentração de BAP na indução de calos. As considerações

de Asadi et al. (2018) estão de acordo com os resultados obtidos, em que no meio de cultivo adicionado apenas de 2,4-D, 73,33% dos explantes formaram calos, quando comparado ao meio adicionado apenas de BAP, 92,31%; quando acrescido com esses dois fitorreguladores, esse valor alcançou 100% (Tabela 3).

Tabela 3. Indução de calos, área e massa fresca de calos obtidos de segmentos apicais de gavinhas de meloeiro (*Cucumis melo* L. var *inodorus*) amarelo híbrido Goldex em meio de cultivo MS com diferentes combinações de 6-benzilaminopurina (BAP), ácido naftalenoacético (ANA) e ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), aos 60 dias de cultivo in vitro.

Tratamento ¹	Concentração (mg L ⁻¹)			IC (%) ²	Área (mm ²) ³	Massa fresca (mg) ³
	BAP	ANA	2,4-D			
MS ₀	–	–	–	0,00	–	–
MS _{0,20B}	0,20	–	–	92,31	299,08 ± 34,41 a ³	1105,23 ± 131,73 b
MS _{0,20A}	–	0,20	–	92,31	69,17 ± 8,81 b	222,81 ± 34,90 c
MS _{0,45D}	–	–	0,45	73,33	108,73 ± 21,75 b	391,33 ± 65,74 c
MS _{0,20B;0,20A}	0,20	0,20	–	100,00	499,36 ± 83,06 a	2484,89 ± 324,46 a
MS _{0,20B;0,45D}	0,20	–	0,45	100,00	206,57 ± 20,90 a	979,79 ± 97,87 b

(¹) A = ANA; B = BAP; e D = 2,4-D.

IC (%) = Índice de calogênese.

(²) Dados transformados pelo método de Box-Cox.

(³) Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente segundo o teste de Scott-Knott (P < 0,05).

Nos meios de cultivo contendo BAP, isoladamente (MS_{0,20B}) e combinado com ANA (MS_{0,20B;0,20A}) ou 2,4-D (MS_{0,20B;0,45D}), todos os calos formados apresentaram a coloração verde (Tabela 4, Figura 2). Probowati e Daryono (2018) ressaltam que a coloração verde está relacionada com a presença de BAP, uma vez que esta citocinina tem influência na formação de cloroplastos nos calos. Nestes meios de cultivo, adicionados de BAP, constatou-se que os calos apresentaram baixa oxidação e se desenvolveram de modo a cobrir toda a superfície do explante, de forma que não era mais possível visualizar a gavinha aos 60 dias do início da condução do experimento (Tabela 4). Probowati e Daryono (2018) mencionam que no meio de cultivo adicionado de BAP (1,0 mg L⁻¹) e 2,4-D (2,0 mg L⁻¹) os calos formados nos explantes de cotilédone da linhagem F₂ do cruzamento Yamatouri x Vankharman eram de coloração verde, atingindo crescimento ótimo e rápido.

A adição da auxina ANA ao meio de cultivo contendo BAP aumentou a formação de calos friáveis nos explantes de segmentos apicais de gavinha no meloeiro amarelo híbrido Goldex (Tabela 4). Quando

esta auxina foi utilizada isoladamente, todos os calos formados apresentavam estrutura compacta, enquanto em combinação com a citocinina mais de 90% deles apresentaram-se friáveis (Tabela 4). A combinação BAP e ANA também foi mais efetiva para indução de calogênese em explantes de cotilédone da variedade Maazoun do que a combinação BAP (2,0 mg L⁻¹) e 2,4-D (0,5 mg L⁻¹) (Awatef; Mohamed, 2013). Esses resultados são compartilhados por Ren et al. (2013), que constataram que a adição da auxina AIA aumentou a formação de calos em explantes de cotilédone da variedade Honeydew, sendo estes calos friáveis, embora brancos, diferentemente da coloração verificada no presente estudo, que foi verde. Narayan (2015) também constatou que os calos formados a partir de explantes de epicótilo da variedade Naudin, na combinação BAP (0,5 mg L⁻¹) e AIA (2,0 mg L⁻¹), foram mais responsivos do que os de hipocótilo, formando calos verdes de textura compacta, que cresceram significativamente tanto em tamanho quanto em massa, mas não apresentaram diferenciação durante os subcultivos sucessivos, de intervalos de 21 a 28 dias.

Tabela 4. Aparência e textura em calos obtidos de segmentos apicais de gavinhas de meloeiro (*Cucumis melo* L. var *inodorus*) amarelo híbrido Goldex, em meios de cultivo MS com diferentes combinações de 6-benzilaminopurina (BAP), ácido naftalenoacético (ANA) e ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), aos 60 dias após a inoculação in vitro.

Tratamento ¹	Concentração (mg L ⁻¹)			Cor (%)		Intensidade de oxidação (%)			Textura (%)	
	BAP	ANA	2,4-D	Bege	Verde	Baixa	Média	Alta	Compac-ta	Friável
MS ₀	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
MS _{0,20B}	0,20	–	–	0,0	100,0	100,0	0,0	0,0	41,67	58,33
MS _{0,20A}	–	0,20	–	25,0	75,0	92,3	0,0	7,7	100,00	0,00
MS _{0,45D}	–	–	0,45	100,0	0,0	80,0	6,7	13,3	9,09	90,91
MS _{0,20B;0,20A}	0,20	0,20	–	0,0	100,0	100,0	0,0	0,0	7,14	92,86
MS _{0,20B;0,45D}	0,20	–	0,45	0,0	100,0	100,0	0,0	0,0	92,86	7,14

¹A = ANA; B = BAP; e D = 2,4-D.

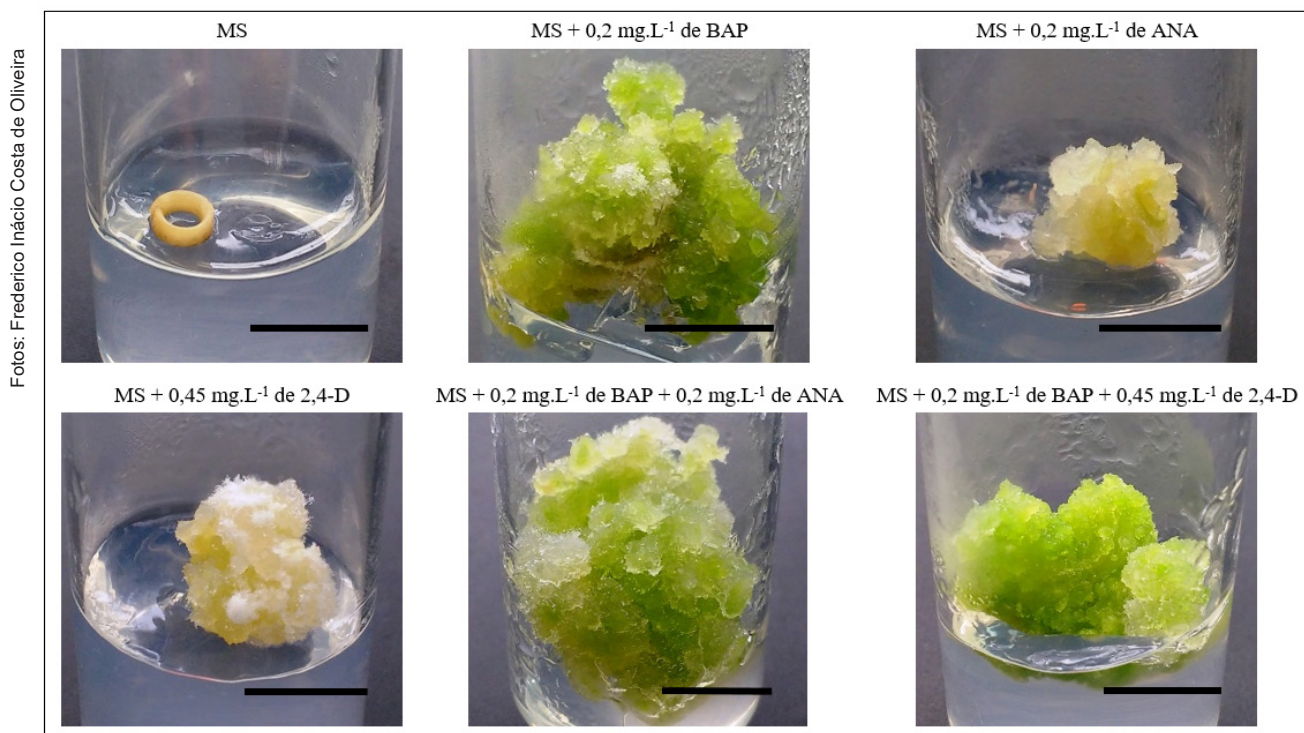


Figura 2. Segmentos apicais de gavinha de meloeiro (*Cucumis melo* L. var *inodorus*) amarelo híbrido Goldex, 60 dias após a inoculação in vitro em meio de cultivo MS com diferentes combinações de 6-benzilaminopurina (BAP-B), ácido naftalenoacético (ANA-A) e ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D-D). Barra = 10,0 mm.

Awatef e Mohamed (2013) e Narayan (2015) ressaltam que a extensão, intensidade, coloração e textura dos calos formados dependem dos tipos de reguladores de crescimento, presentes nos meios de cultivo, e das fontes de explantes, das cultivares de meloeiro Maazoun e Beji e Naudin, respectivamente.

Houve correlação positiva significativa entre área (mm²) e massa fresca (mg) dos calos, nos dois experimentos. Os modelos de regressão linear gerados foram significativos e apresentaram altos coeficientes de determinação nos dois experimentos, assegurando a confiabilidade das regressões (Tabela 5).

Tabela 5. Correlação e regressão linear entre a área (A) e a massa fresca (M) dos calos formados em segmentos apicais de gavinhas de meloeiro (*Cucumis melo* L. var *inodorus*) amarelo híbrido Goldex nos dois experimentos.

Experimento ¹	r (A, M) ²	Modelo ³	F teste	R ²
1	0.935**	M = 4.332A - 111.728**	1.590.870	0.874
2	0.945**	M = 4.354A + 20.178**	506.481	0.893

¹Experimento 1: em meio de cultivo MS com diferentes concentrações de 6-furfurilaminopurina (CIN) e ácido indolacético (AIA); experimento 2: em meio de cultivo MS com diferentes combinações de 6-benzilaminopurina (BAP), ácido naftalenoacético (ANA) e ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D).

²Correlação de Pearson entre a área e a massa dos calos.

³Modelo da regressão linear entre a área e a massa dos calos.

** Significância ($P < 0,01$) para o test t e para o teste F da correlação e da análise de variância da regressão entre a área e a massa dos calos, respectivamente.

Com base nos resultados obtidos, em relação aos coeficientes de correlação, pode-se inferir que, embora os calos sejam estruturas tridimensionais, a análise da área sobre papel milimetrado tem estreita associação com sua massa fresca. Para experimentos de indução de calogênese em explantes de gavinhas realizados em placas de Petri, o cálculo da área seria uma alternativa adequada à medição da massa fresca, uma vez que as áreas podem ser quantificadas diretamente nos calos inoculados na placa, evitando o manuseio do explante e sem a sua exposição ao ambiente e, consequentemente, a possibilidade de contaminação, mesmo que em condições assépticas.

Tendo em vista que a via principal, até o presente, de obtenção de plantas in vitro em cucurbitáceas é por meio da etapa intermediária de indução de calos, seja por organogênese ou embriogênese, estudos sobre a calogênese são de extrema relevância, levando-se em consideração as condições de cultivo e os genótipos das plantas doadoras de explantes (Asadi et al., 2018). Em relação às condições de cultivo in vitro, a calogênese, nessa família, é fortemente influenciada pelas concentrações das auxinas ANA (0,05 – 0,5 mg L⁻¹) e 2,4-D (1,0 a 5,0 mg L⁻¹) e das citocininas BAP (1,0 – 4,0 mg L⁻¹) e CIN (0,05 – 0,5 mg L⁻¹) (Kurtar et al.; 2020). Ademais, Narayan (2015) ressalta que a técnica de indução de calos também propicia uma via alternativa para produção de metabólitos secundários, sob condições laboratoriais, possibilitando de forma mais econômica o isolamento de fitoquímicos, minimizando, assim, a coleta de material vegetal a partir de fontes naturais.

Este estudo contempla o primeiro relato do estabelecimento de um protocolo de indução de calos em explantes de segmentos apicais de gavinha em meloeiro amarelo híbrido Goldex. O referido protocolo abre uma nova alternativa para a extração de

substâncias com potencial farmacêutico, sob condições controladas, bem como para a obtenção de calos organogênicos que podem contribuir em estudos posteriores no desenvolvimento de protocolos eficientes de regeneração de plantas, como uma etapa em futuros programas de melhoramento em meloeiro amarelo híbrido Goldex.

Conclusões

A combinação auxina e citocinina favorece a indução de calos em segmentos apicais de gavinhas de meloeiro amarelo híbrido Goldex.

A coloração predominante dos calos é verde nas combinações das auxinas e citocininas, ácido indolacético + 6-furfurilaminopurina, ácido 2,4-diclorofenoxiacético + 6-benzilaminopurina e ácido naftalenoacético + 6-benzilaminopurina.

A textura predominante dos calos é a compacta nas combinações das auxinas e citocininas, ácido indolacético + 6-furfurilaminopurina e ácido 2,4-diclorofenoxiacético + 6-benzilaminopurina.

Há forte associação entre a massa fresca e a área dos calos formados nas gavinhas.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Capes (Bolsa de Doutorado, concedida ao primeiro autor); ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Bolsa de produtividade, processo 312139/2017-9, concedida ao último autor); e à Embrapa Agroindústria Tropical pelo apoio científico e financeiro.

Referências

ASADI, A.; ZEBARJADI, A.; ABDOLAH, M. R.; SEGUÍ-SIMARRO. Assessment of different anther culture

approaches to produce doubled haploids in cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Euphytica**, v. 214, n. 216, 2018. 17 p. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10681-018-2297-x>.

AWATEF, R.; MOHAMED, B. Efficient plant regeneration from cotyledonary explants of Tunisian *Cucumis melo* L. cv. Maazoun and Beji. **Journal of Biodiversity and Environmental Sciences**, v. 3, n. 12, p. 50-58, 2013. <https://issuu.com/dr.ahkabir/docs/jbes-vol8no2-p166-173>. Acesso em: 13 jun. 2025.

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. <http://pccm.ufpa.br/index.php/plantcellculturemicropropagation/article/view/66/23>. Acesso em: 13 jun. 2025.

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-SPI / Embrapa-CNPq, 1998. v. 1, p. 183-260.

GUO, B.; ABBASI, B. H.; ZEB, A.; XU, L. L.; WEI, Y. H. Thidiazuron: A multi-dimensional plant growth regulator. **Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 45, p. 8984-9000, 2011. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJB11.636>.

KURTAR, E. S.; SEYMEN, M.; KAL, U. An overview of doubled haploid plant production in Cucurbita species. **Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Science**, v. 30, n. 3, p. 510-520, 2020. DOI: <https://doi.org/10.29133/yyutbd.741087>.

MÉNDEZ, A. P. **Optimización del protocolo de obtención de dobles haploides en *Cucumis melo***. Dissertação (Mestrado em Técnicas Avanzadas em Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario) – Universidade Politécnica de Cartagena, Cartagena, 2020. 45 p. <https://repositorio.upct.es/handle/10317/9024>. Acesso em: 13 jun. 2025.

MENDİ, Y. Y.; ELDOĞAN, S.; GUTAKEV, R.; İPEK, M.; ÇÜRÜK, P.; ÇETİNER, S. Regeneration and histological analysis of snake melon (*Cucumis melo* var. *flexuosus* (L.) Naudin) by direct organogenesis. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 34, n. 4, p. 309-317, 2010. DOI: <https://doi.org/10.3906/tar-0905-8>.

MORENO, V.; GARCIA-SOGO, M.; GRANELL, I.; GARCIA-SOGP, B.; ROIG, L. A. Plant regeneration from calli of melon (*Cucumis melo* L., cv. 'Amarillo Oro'). **Plant Cell Tissue Organ Culture**, v. 5, p. 139-146, 1985. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00040310>.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962. DOI: <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. DOI: <https://doi.org/10.15171/IJB.1077>.

NARAYAN, J. P. In vitro cultures for quick callus induction and organogenesis in *Cucumis melo* L. var. *agrestis* Naudin. **RIE Consultation Meet-cum-Seminar on Science Education**, v. 59, p. 1-7, 2015.

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

OLIVEIRA, F. I. C. de; CARVALHO, A. V. F.; CARVALHO, A. C. P. P. de; ARAGÃO, F. A. S. de. **Estabelecimento in vitro de meloeiro amarelo híbrido Goldex**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2022. 23 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 236). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1148738>. Acesso em: 13 jun. 2025.

PERAITA, V. A. **Sistemas de alto rendimiento en la regeneración in vitro de melón y pepino**. Dissertação (Mestrado em Biotecnología Molecular y Celular de Planta), Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, 2016. 52 p. <https://riunet.upv.es/handle/10251/76819>. Acesso em: 13 jun. 2025.

PLANTSEED Tecnologia no campo. **Melão Amarelo Híbrido Goldex F1**. Disponível em: <https://plantseed.com.br/produto/melao-amarelo-hibrido-goldex-f1/>. Acesso em: 13 jun. 2025.

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: Journal Agrosains (Journal of Agro Science)**, v. 6, n. 1, p. 15-21, 2018. DOI: <https://doi.org/10.18196/pt.2018.076.15-21>.

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. DOI: <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. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11627-012-9482-8>.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

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**. Croatia: InTech, 2013. Cap. 11, p. 257-275. DOI: <https://doi.org/10.5772/55455z>.

ULLAH, A.; MASOOD, A.; AKHTAR, B.; RAHIM, B. Z.; KAKAR, A. U. Establish of protocol for *Cucumis melo* L.

using different hormones through plant tissue culture technique. **Pakistan's Multidisciplinary Journal for Arts & Science**, v. 4, n. 2, p. 128-140, 2023. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.8154898>.

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. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s13562-013-0211>.



**Ministério da
Agricultura e Pecuária**