

UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA (UNEB)
Pró-Reitoria de Pesquisa e Ensino de Pós-graduação (PPG)
Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais (DTCS)
Programa de Pós-Graduação em Horticultura Irrigada – Mestrado (PPHI)

LARISSE ROMERO LARANGEIRA

**PROLIFERAÇÃO AXILAR *IN VITRO*, EM SEGMENTOS CAULINARES DE
MELANCIA (*CITRULLUS LANATUS*)**

JUAZEIRO-BA
2015

UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA (UNEB)
Pró-Reitoria de Pesquisa e Ensino de Pós-graduação (PPG)
Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais (DTCS)
Programa de Pós-Graduação em Horticultura Irrigada – Mestrado (PPHI)

LARISSE ROMERO LARANGEIRA

**PROLIFERAÇÃO AXILAR *IN VITRO*, EM SEGMENTOS CAULINARES DE
MELANCIA (*CITRULLUS LANATUS*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Horticultura Irrigada da Universidade do Estado da Bahia (PPHI/UNEB/DTCS), como parte do requisito para a obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de Concentração: Horticultura Irrigada

Orientador: Prof. PhD. Manoel Abilio de Queiróz

Co-orientadora: Dra. Juliana Martins Ribeiro

JUAZEIRO-BA
2015

FICHA CATALOGRÁFICA

Larangeira, Larisse Romero

L318p Proliferação axilar *in vitro*, em segmentos caulinares de melancia (*Citrullus lanatus*). / Larisse

Romero Larangeira. -- Juazeiro, 2015.

43 fl. il.

Orientador: Prof. PhD. Manoel Abílio de Queiroz

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade do Estado da Bahia -
UNEB, Departamento de
Tecnologia e Ciências Sociais. Programa de Pós-graduação em Horticultura Irrigada
(PPHI)

Bibliografia

1. Melancia 2. Tecidos - (Anatomia e fisiologia) - cultura e meios de cultura 3.
Cultura *in vitro* I.

Queiroz, Manoel Abílio de II. Universidade do Estado da Bahia - Departamento de
Tecnologia e Ciências
Sociais III. Título

CDD 635.615

LARISSE ROMERO LARANGEIRA

**PROLIFERAÇÃO AXILAR *IN VITRO*, EM SEGMENTOS CAULINARES DE
MELANCIA (*CITRULLUS LANATUS*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Horticultura Irrigada da Universidade do Estado da Bahia (PPHI/UNEB/DTCS), como parte do requisito para a obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de Concentração: Horticultura Irrigada

Aprovada em: __/ __/ 2015

Prof. PhD. Manoel Abilio de Queiróz
Universidade do Estado da Bahia (DTCS / UNEB)

Profa. Dra. Anna Christina Passos Menezes
Universidade do Estado da Bahia (DTCS/UNEB)

PhD. Silvio Lopes Teixeira
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária do Semiárido (EMBRAPA)

Aos meus pais.
Por sempre estarem ao meu lado.
Por sempre me apoiar.
Por fazerem o melhor por mim.
E principalmente, por me amarem como eu sou.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus... Minha fortaleza! Que me acompanhou dia-a-dia, renovando-me, e me mostrou que esperar n'Ele é sempre a receita para o sucesso!

A toda a minha amada família: Que sempre contribuíram para minha educação, principalmente aos meus pais, que acreditaram no meu potencial, minhas tias Vileide e Vaneide por suas orações dedicadas a mim, meus irmãos que tanto amo, em especial Layse por não me deixar enlouquecer ou morrer de fome. Rs... Também quero agradecer as minhas primas queridas que tornam a minha vida mais alegre quando estão ao meu lado: As Larangatas, com destaque para Ana Claudia que do seu jeito simples e com sua boa vontade me ajudou a realizar esse trabalho.

Ao meu amor, Italo: Que chegou há pouco tempo na minha vida e já me faz tão feliz, além de ter ficado quase sem dedos me ajudando a cortar sementes de melancia.

Ao meu orientador Manoel Abilio Queiróz: Pelo acompanhamento profissional constante, confiança e amizade oferecida a mim durante o mestrado.

À minha Co-orientadora Dra. Juliana Martins Ribeiro: Pela orientação, confiança e amizade depositadas em mim durante a realização desse projeto.

Ao Dr. Silvio Lopes Teixeira: Por todos os ensinamentos, por todas as dúvidas esclarecidas e pela sua amizade.

A toda a equipe do Mestrado em Horticultura: Por tornarem a realização desse trabalho possível.

À Universidade do Estado da Bahia: Pela estrutura e suporte para execução das atividades.

À CAPES: Pela concessão da bolsa.

À Embrapa Semiárido: Pela oportunidade de realização do projeto.

Aos meus colegas do laboratório de Biotecnologia: Pela ajuda na realização dos meus experimentos, em especial Maiany e Micaele por serem minhas confidentes fieis e terem paciência para tirar as minhas dúvidas quanto ao trabalho.

A todos aqueles que porventura eu tenha esquecido de citar seus nomes e que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste mestrado, meus sinceros agradecimentos.

Larisse Romero Larangeira

SUMÁRIO

RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Origem e importância econômica da cultura	14
2.2 Classificação da melancia.....	16
2.3 Cultura de tecidos em melancia.....	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5. CONCLUSÕES.....	34
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	35
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Detalhe da inoculação de uma semente melancia da linha da cv. Sugar Baby em meio MS colocado em tubo de ensaio. Embrapa Semiárido, Petrolina, 2014.23
- Figura 2. Detalhe dos tubos de ensaio com as sementes da linha da cv. Sugar Baby inoculadas em meio MS e colocadas em um rack na câmara de crescimento. Embrapa Semiárido, Petrolina, 2014.....23
- Figura 3. Plântulas nos tubos de ensaio na sala de crescimento. Embrapa Semiárido, Petrolina, 2014.....24
- Figura 4. Aspecto das plântulas do acesso 44 aos 40 dias de cultivo em função de doses de BAP (1 = T1 (0,0 μM de BAP); 2 = T2 (0,25 μM de BAP); 3 = T3 (0,50 μM de BAP); 4 = T4 (0,75 μM de BAP); 5 = T5 (1, 0 μM de BAP). Embrapa Semiárido, Petrolina, 2014.27
- Figura 5. Aspecto das plântulas do acesso 44 aos 60 dias de cultivo em função de doses de BAP (1 = T1 (0,0 μM de BAP); 2 = T2 (0,25 μM de BAP); 3 = T3 (0,50 μM de BAP); 4 = T4 (0,75 μM de BAP); 5 = T5 (1, 0 μM de BAP)). Embrapa Semiárido, Petrolina, 2014.....28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores médios do número médio dos brotos (NMB) e do comprimento dos brotos (CB, em cm), do acesso 44 avaliados com diferentes doses de BAP.....	27
Tabela 2: Valores do número médio de raízes (NMR) e do comprimento médio das raízes (CR, em cm) do acesso 44 avaliados com diferentes dosagens de BAP.	30
Tabela 3: Valores do número médio de raízes (NMR) e comprimento médio das raízes (CR, em cm) do acesso 44 avaliados com diferentes doses de AIB.....	32

PROLIFERAÇÃO AXILAR *IN VITRO*, EM SEGMENTOS CAULINARES DE MELANCIA (*CITRULLUS LANATUS*)

RESUMO

O objetivo do trabalho foi estabelecer um protocolo de multiplicação eficiente de uma linha da cv. Sugar Baby, do Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro, localizado na Embrapa Semiárido, Petrolina-PE. Foram utilizados como explantes segmentos apicais, segmentos nodais com gemas, e brotos de aproximadamente um cm de comprimento, que foram inoculados em meio composto de sais MS e vitaminas de White, com variação nas concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP) em μM : 0,0 - 0,25 - 0,5 - 0,75 - 1,0. Dados referentes ao número médio de brotos (NMB), comprimento dos brotos (CB, em cm), número médio de raízes (NMR) e comprimento das raízes (CR, em cm) foram tomados decorridos 40 e 60 dias. Os resultados mostraram que houve diferença estatística para a variável número médio de brotos apenas após 60 dias de cultivo, sendo as concentrações superiores a 0,75 μM de BAP mais eficientes na indução de gemas para o acesso 44 da cv. Sugar Baby. Quanto ao número médio de raízes, a presença de BAP no meio de cultura inibiu a indução de raízes, uma vez que o tratamento T1 com 0,0 μM de BAP foi o que apresentou os melhores resultados em ambas as avaliações. Em relação ao comprimento médio das raízes, observou-se diferença significativa após 60 dias de cultivo, sendo a testemunha superior aos demais. No experimento de enraizamento com ácido indolbutírico (AIB), não houve diferença estatística para o número médio de brotos devido à hiperidricidade que ocorreu nos explantes. Porém, para o comprimento médio das raízes, o tratamento T1 com 0,0 mg L⁻¹ de AIB apresentou as melhores médias. Desta forma, concluiu-se que, nas condições experimentais adotadas, o BAP mostrou-se eficiente na indução de brotos de melancia do acesso 44, cv. Sugar Baby e não houve necessidade de adicionar o regulador vegetal AIB para induzir o enraizamento das plântulas.

Palavra-chave: Cultura de tecidos, clonagem, protocolo de multiplicação

***IN VITRO* AXILLAR PROLIFERATION IN NODAL SEGMENTS OF WATERMELON (*CITRULLUS LANATUS*)**

Abstract: The aim of this work was to establish a protocol for efficient multiplication of a Sugar Baby line from the Active Germplasm Bank of Cucurbitaceae of Northeast of Brazil that is located at Semiarid Embrapa, Petrolina, PE. Apical shoot tips, nodal segments and tips of one-centimeter length were used. They were inoculated in compound medium of MS salts and C vitamin with variation in the concentrations of 6-benzilaminopurina (BAP) in μM : 0.0 – 0.25 – 0.5 – 0.75 – 1.0. Data referring to average number of tips (NMB), tip length (CB, in cm), average number of roots (NMR) and root length (CR, in cm) were recorded at 40 and 60 days after inoculation. It was found significant differences for average number of shoot tips only for 60 days after inoculation being the concentrations of BAP above 0.75 more efficient in the induction of buds in the Sugar Baby line. Regarding the average number of roots, the presence of BAP inhibited the root induction, since the check (0.0 μM) presented best results in both evaluations. The root length showed significant differences only 60 days after inoculation and the check was superior to the other treatments. In the experiment of rooting with indolbutiric acid (AIB) there was no significant differences for average number of tips due to vitrification that occurred in the explants. However, for the root length, 0.0 of mg L^{-1} presented the best results. Therefore, it was concluded that in the experimental conditions used in the trials, BAP was efficient in the tip induction of a Sugar Baby line and it was not necessary to add the AIB regulator to induce root development of the seedlings.

Key-words: Tissue culture, cloning, multiplication protocol.

1. INTRODUÇÃO

A melancia, (*Citrullus lanatus*) (Thunb.) Matsum & Nakai, é uma cucurbitácea de grande expressão econômica e social, com propriedades nutricionais e terapêuticas, fazendo dela um fruto de grande aceitação (Dias *et al.*, 2006). Além disso, a cultura tem um ciclo de produção curto e de fácil manejo, podendo ser cultivada em condições de sequeiro ou irrigada, por pequenos, médios ou grandes produtores (Dias & Resende, 2010).

O centro de origem da melancia tem sido atribuído à África tropical e foi introduzida no Brasil por diferentes rotas, incluindo os escravos e os imigrantes e colonizadores (Romão, 1995; Correa, 2010). A melancia se dispersou e se manteve na agricultura tradicional pelos agricultores familiares, que guardam sementes dos tipos que consideram importantes e as plantam anualmente, submetendo as mesmas à seleção natural e artificial (Whitaker & Bemis, 1976; Queiroz, 2004). Por outro lado, a maioria das cultivares plantadas comercialmente no Brasil é de origem americana, a exemplo das Crimson Sweet e tipos assemelhados e japonesa como Omaru Yamato (Queiroz *et al.* 2001; Teixeira, 2008), sendo que as mesmas, apesar de apresentarem boas características de planta e fruto, são suscetíveis aos principais estresses bióticos (Queiroz *et al.*, 1999). Dentre esses estresses, ocorrem aqueles que só podem ser avaliados com métodos destrutivos, como ocorre com as avaliações de acessos de melancia frente à infestação de nematoides *Meloidogyne* spp., o que impossibilita o resgate de eventuais genótipos que sejam resistentes. Dessa forma, a cultura de tecidos pode ser utilizada visando clonar plantas que se mostrarem resistentes. Essa ferramenta biotecnológica também pode ser utilizada para auxiliar o melhoramento genético, pois compreende o cultivo de células, tecidos ou órgãos em meios de cultura artificiais e em condições de assepsia e oferece rotas potenciais para o melhoramento da melancia (Compton *et al.*, 2004). Além disso, a propagação clonal de genótipos resulta em um grande número de descendentes idênticos, fato que é de extrema importância para manutenção de características desejadas, obtidas por programas de melhoramento convencional (Bertoazzo & Machado, 2010).

Das técnicas de propagação *in vitro*, a cultura de ápices caulinares, ou cultura de ápices meristemáticos, pode ser utilizada na obtenção de plantas, limpeza clonal,

conservação e intercâmbio de germoplasma e transformação genética (Torres *et al.*, 1998). Porém o sucesso é altamente dependente de vários fatores, como o genótipo, tipo e idade dos explantes e reguladores de crescimento (Xuezheng *et al.*, 2013).

O genótipo é um fator muito importante, pois pode interferir significativamente na taxa de regeneração de diferentes cultivares. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi estabelecer um protocolo de multiplicação eficiente para uma linha da cv. Sugar Baby, do Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro, localizado na Embrapa Semiárido, Petrolina-PE.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Origem e importância econômica da cultura

A melancia pertence à família das cucurbitáceas e tem como centro de origem o continente africano. É uma espécie de grande importância econômica sendo cultivada em vários países do mundo como China, Estados Unidos, Índia, Japão, Turquia e também no Brasil onde teve duas vertentes de introdução. A primeira aconteceu na agricultura tradicional do Nordeste brasileiro, após a introdução pelos escravos africanos e por outras rotas e que perdura até os dias atuais na agricultura familiar, sendo espalhada em quase todos os estados da região (Romão, 1995; Correia, 2010). A segunda introdução, segundo Costa e Pinto (1977), ocorreu na década de 50, no município de Americana-SP, a partir de genótipos melhorados nos Estados Unidos que resultaram em variedades comerciais cultivadas em muitas regiões do Brasil, tendo atingido o Nordeste brasileiro a partir dos perímetros irrigados do Vale do São Francisco na década de 70. De acordo com os mesmos autores as cultivares japonesas também foram introduzidas no estado de São Paulo pelos imigrantes japoneses em diferentes regiões e igualmente se espalharam pelo país.

No Brasil, o cultivo de melancia vem se expandindo, com áreas de produção em vários estados brasileiros e em 2013 chegou a uma produção de mais de dois milhões de toneladas com um valor da produção de cerca de um bilhão de reais (IBGE, 2013). No entanto, a maior parte da produção brasileira é destinada ao mercado interno e, quando comparado aos principais países exportadores como México, Espanha e Estados Unidos, encontra-se em um patamar inferior em relação à exportação (AGRIANUAL, 2011). Os principais polos produtores no Brasil estão no Nordeste brasileiro, seguido da região Sul e em terceiro lugar fica a região Norte. No Sul a maior produção está no estado do Rio Grande do Sul que em 2013 produziu 433.335 toneladas de frutos e no Nordeste, destacando-se como maiores produtores a Bahia e o Rio Grande do Norte com produção de 212.148 e 121.047 toneladas, respectivamente, porém, a produção ocorre em todos os Estados da região. Na região Norte se destacam os estados de Tocantins, Pará e Amazonas com produção de 199.237, 117.410 e 95.653 toneladas (IBGE, 2013).

Na região Nordeste, a melancia vem sendo cultivada tanto na agricultura de sequeiro, por pequenos agricultores, quanto na agricultura irrigada, com grande importância socioeconômica devido ao seu manejo ser relativamente simples e de baixo custo de produção quando comparadas com outras hortícolas, gerando receita e emprego para o homem do campo (Rocha, 2010). A região do Submédio do Vale do São Francisco é um dos principais polos de produção de melancia do país e é o maior da região Nordeste, com uma área plantada de cerca de 4.500 ha, concentrada principalmente nos municípios de Santa Maria da Boa Vista, Petrolina, Juazeiro e Casa Nova, estando os dois primeiros localizados no Estado de Pernambuco e os dois últimos no Estado da Bahia (Araújo *et al.*, 2008). Tanto em Pernambuco quanto na Bahia, as variedades comerciais são cultivadas em áreas de agricultura irrigada, enquanto as variedades locais são cultivadas em áreas de agricultura tradicional (Queiroz, 2004). Além disso, as cultivares melhoradas e introduzidas foram desenvolvidas para o comércio enquanto que os tipos locais foram desenvolvidos principalmente para consumo familiar ou de animais, sendo que em alguns locais, como ocorre no Distrito de Massaroca, Juazeiro-BA, encontram-se inseridas em um sistema organizado para comercialização da produção (Silva, 2004).

As principais cultivares comerciais existentes no Brasil, como dito, são de origem americana e japonesa, destacando-se, no passado, Charleston Gray, Crimson Sweet, Sugar Baby, Jubilee, Fairfax, Flórida Gigante, Omaru Yamato além de alguns híbridos como Crimson Glory, Emperor, Eureka, Rubi AG-8 e Safira AG-124. Também foram disponibilizados alguns híbridos de melancia sem sementes, dos quais o mais comum foi o Tiffany (Queiroz *et al.*, 1999). No entanto, a cultivar Crimson Sweet e tipos assemelhados, ainda hoje são os mais cultivados, respondendo por mais de 90% do fornecimento ao mercado consumidor (Dias *et al.*, 2010). Atualmente, os híbridos triploides são mais cultivados nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte para exportação destacando-se vários deles como Petit Perfection, Master, Boston, Leopard, Extazy, Mielheart, Donovan, Style, Fashion, Selecta, Troubadour, Shadow entre outros (Granjeiro, 2015, comunicação pessoal).

Essas introduções de cultivares comerciais de cucurbitáceas são geralmente restritas a poucos genótipos. Eles são muito uniformes e não foram desenvolvidos para os sistemas agrícolas brasileiros. Essa estratégia cria grandes exigências para um ajuste

ambiental, especialmente para minimizar estresses bióticos para atingir rendimentos desejáveis (Queiroz, 2004). Por outro lado, na agricultura tradicional, as populações cultivadas apresentam ampla variabilidade genética, devido ao fato de os agricultores usarem as próprias sementes para o cultivo ao longo dos anos e, assim, as plantas foram submetidas à seleção natural e à seleção dos próprios agricultores sendo encontradas populações adaptadas à região. Além disso, em função da maioria destes produtores manejarem a cultura praticamente sem o uso de agroquímicos, principalmente pesticidas, estas apresentam resistência a determinados estresses bióticos (Costa Filho, 2012; Silva, 2015), podendo ser utilizadas como fontes de genes para o melhoramento genético dos tipos comerciais. Um exemplo dos tipos cultivados pelos agricultores e adaptados às condições edafoclimáticas do Nordeste é *Citrullus lanatus* var. *citroides*, de polpa branca e não amarga, que vem sendo utilizada para fins forrageiros pelos agricultores da área de sequeiro para alimentação dos seus animais (Queiroz *et al.*, 1999).

Devido ao grande potencial de produção e à ampla variabilidade genética encontrada no Nordeste do Brasil, foi criado o Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro, localizado na Embrapa Semiárido em Petrolina-PE, que engloba o Banco de Germoplasma de Melão (BGMEL), o Banco de Germoplasma de Cucurbita (BGC) e o Banco de Germoplasma de Melancia (BGCIA), onde o último possui atualmente 870 acessos (Silva *et al.*, 2010), incluindo cultivares comerciais, amostras da agricultura tradicional e alguns parentes silvestres da melancia (*C. lanatus* var. *citroides* e *C. colocynthis*), com a finalidade de resgatar as populações tradicionais da região, introduzir variabilidade não existente, preservar, documentar e manter intercâmbio de germoplasma de outras regiões, avaliando seu potencial para as condições do Brasil (Silva, 2004), mantendo desta forma os genótipos preservados que podem ser usados em programas de melhoramento genético dessas espécies de cucurbitáceas.

2.2 Classificação da melancia

A melancia é classificada taxonomicamente como pertencente ao Reino Vegetal, Divisão Magnoliophyta (Spermatophyta), Subdivisão Angiospermae, Classe

Magnoliopsida (ou Campanulales), Subclasse Dilleniidae (ou Dicotyledonae), Superordem Violanae, Ordem Violales (Cucurbitales), Família Cucurbitaceae, Subfamília Cucurbitoideae, Tribo Benincaseae, Sub-tribo Benincasinae, Gênero *Citrullus* (Barroso, 1978; Silva, 2004).

O gênero *Citrullus* é composto por quatro espécies diplóides ($2n = 22$), *C. lanatus* Mansf. (melancia); *C. colocynthis* (L.) Schrad, caracterizada pelo sabor amargo, crescendo em superfícies arenosas em todo Nordeste da África, Sudeste da Ásia e Mediterrâneo; *C. ecirrhosus* Cogn, espécie silvestre perene e *C. rehmmi* Winter, espécie silvestre anual (Meeuse, 1962; Whitaker & Bemis, 1976).

A melancia é uma planta herbácea de ciclo anual que varia de 70 a 120 dias, dependendo das condições ambientais e da cultivar utilizada. Seu hábito de crescimento é rasteiro, com várias ramificações que alcançam até cinco metros de comprimento com gavinhas ramificadas. São plantas alógamas ou de reprodução cruzada, mais que não perdem o vigor com a autofecundação. O sistema radicular é extenso, mas superficial, com um predomínio de raízes nos primeiros 60 cm do solo. As folhas da melancia são profundamente lobadas (Filgueira, 2003). É uma planta monóica, possui flores masculinas e femininas separadas, mas também ocorrem plantas andromonóicas (flores masculinas e hermafroditas) ou ginandromonóicas (flores masculinas, femininas e hermafroditas). O pólen da flor da melancia é pegajoso e as abelhas são os principais polinizadores. Elas são atraídas pelo néctar e pólen, e, ao visitarem as flores realizam polinização (Dias & Rezende, 2010). O fruto é um pepônio cujo peso varia entre 1 a 25 kg e o formato pode ser arredondado, oblongo ou alongado, podendo atingir 60 cm de comprimento. A casca é espessa, o exocarpo é em geral verde, claro ou escuro e a polpa é normalmente vermelha, podendo ser amarela, laranja, branca ou verde (Alvarenga & Resende, 2002; Filgueira, 2003) e pode ser classificada em macia ou firme (crocante), sendo que as cultivares de polpa macia são muito apreciadas no mercado nacional e as de polpa firme no mercado de exportação, muito observado nas cultivares triplóides ou sem sementes (Dias & Rezende, 2010).

A melancia, de forma geral, apresenta cerca de 200 a 800 sementes por fruto, cuja cor varia conforme o genótipo, que ficam inseridas na polpa. As cultivares triplóides não apresentam sementes perfeitas ou apresentam um número reduzido, variando de 1 a 10, mas apenas rudimentos de sementes, “sementes brancas”, que são

comestíveis (Dias & Rezende, 2010). Esta olerícola também possui o conteúdo de licopeno mais alto entre frutas frescas e legumes e essa substância na dieta humana é associada com a prevenção de ataques de coração e certos cânceres como o de próstata (Guner & Wehner, 2008).

2.3 Cultura de tecidos em melancia

O cultivo *in vitro* de plantas é uma técnica por meio da qual se realiza o cultivo de células, tecidos ou órgãos em meio nutritivo adequado e em condições assépticas. Possibilita a propagação em larga escala de plantas com qualidade genética e fitossanitária superiores, facilitam seu transporte, pois centenas de plantas podem ser transportadas em um espaço reduzido, auxilia na recuperação de espécies em vias de extinção, entre outras vantagens (Oliveira, 2000). Além disso, oferece novas alternativas aos programas de melhoramento em suas diferentes fases (Ferreira *et al.*, 1998).

A regeneração de plantas através da cultura de tecidos baseia-se no princípio da totipotência, conforme proposto pelo fisiologista Haberlandt (1902), que enunciou que cada célula vegetal possuía o potencial genético para regenerar uma planta inteira. Esta pode ocorrer através de duas rotas morfogênicas: a organogênese e a embriogênese somática (Silva, 2005; Rebouças, 2010; Zimmermann, 2010) e ambas podem ocorrer de forma direta (a partir de células diferenciadas sem proliferação de tecido indiferenciado) ou indireta (através de células desdiferenciadas e não especializadas de tecidos de calos ou suspensões celulares) (Gahan & George, 2008). Porém, em 2004, Chawla afirmou a existência de uma terceira rota morfogênica, a proliferação de gemas; esta baseia-se na multiplicação por meio da proliferação e crescimento de meristemas pré-existentes na planta (Chawla, 2004; Ribeiro *et al.*, 2012). Já a organogênese pode ser definida como o processo em que as células e os tecidos são induzidos a formarem um novo órgão nos quais antes eles não existiam (Lemos, 2010). E a embriogênese somática é o processo pelo qual as células somáticas são induzidas a formar embriões somáticos que são semelhantes aos embriões zigóticos, todavia não são produtos da fusão de gametas e nem apresentam conexões vasculares com os tecidos maternos (Jiménez, 2001; Carvalho *et al.*, 2006).

O sucesso para qualquer via de regeneração *in vitro* depende de vários fatores, onde os fitorreguladores se destacam como os principais controladores da morfogênese *in vitro* (Moura *et al.*, 2001). As auxinas e as citocininas são as classes de reguladores vegetais mais utilizadas na cultura de tecidos. A formação de raiz, parte aérea e calo em cultura de tecidos é regulada pela disponibilidade e interação dessas duas classes de reguladores vegetais (Skoog & Miller, 1957). Porém outros reguladores como giberelina, etileno e ácido abscísico também são utilizados.

A cultura de tecidos também pode ser limitada pelo genótipo, pois o comportamento dos tecidos vegetais *in vitro* em processos tais como a formação de calo e regeneração, muitas vezes parece ter um maior controle genético, enquanto que os outros fatores parecem apenas exercer um efeito inferior (Gahan & George, 2008). Dessa forma, cada genótipo responde de uma forma diferente ao cultivo *in vitro*, não havendo um meio de cultura universal ideal para todos, uma vez que até dentro da mesma espécie existe diferença nas respostas morfogênicas.

Assim para o sucesso da cultura de tecidos é essencial o desenvolvimento de um protocolo eficiente de regeneração *in vitro* de plantas. Existem vários trabalhos realizados com o cultivo *in vitro* de espécies de cucurbitáceas como melão (Jain & More, 1992; Spetsidis *et al.*, 1996; Pinho *et al.*, 2010), abobrinha-de-moita (Pink & Walkey, 1984; Chee, 1992; Ananthakrishnan *et al.*, 2003), pepino (Sapountzakis & Tsaftaris, 1994; Kim *et al.*, 2000), porongo (Bisognin *et al.*, 2008) e abóbora (Rahman *et al.*, 1993).

Alguns protocolos também têm sido testados para micropropagação de melancia, visando o estabelecimento de um processo eficiente de produção em massa de mudas, sobretudo para os genótipos tetraplóides e triplóides. No caso das cultivares triplóides, as tentativas têm sido prejudicadas pela baixa proliferação de gemas e baixo desempenho das plantas com relação ao enraizamento e à aclimatização (Compton & Gray, 1992; Souza, 2003), sendo as variedades diplóides mais eficientes.

Geralmente são utilizados segmentos de cotilédones obtidos de plântulas germinadas *in vitro* para a indução da organogênese indireta de melancia, podendo ser usado tanto a parte distal como a proximal dos cotilédones (Compton, 2000; Krug *et al.*, 2005; Stipp, 2009). No entanto, pode haver diferença na eficiência da regeneração para ambas as partes, pois cada genótipo responde de forma diferente (Compton e Gray

1994; Krug *et al.*, 2005 & Xuezheng *et al.*, 2013). Já para a indução da organogênese direta, é comumente utilizado a gema apical da melancia como explante como pode ser visto nos trabalhos realizados por Shalaby *et al.* (2008); Khalekuzzaman *et al.* (2012) e Huang *et al.* (2011). Com relação à embriogênese somática, trabalhos como os de Dong e Jia (1991) e Compton e Gray (1993a), demonstraram que esta não é uma técnica viável devido à baixa taxa de regeneração dos explantes, além da dificuldade de obtenção dos mesmos (Compton; Gray & Gaba, 2004).

Na micropropagação de melancia geralmente usa-se alguma citocinina como regulador vegetal para a indução e multiplicação de brotos, sendo o 6-benzilaminopurina (BAP) o mais utilizado, seja sozinho ou combinado com outros reguladores. Compton e Gray (1993b), Okumus *et al.* (2011) e Khalekuzzaman *et al.* (2012) em experimentos utilizando gema apical de *Citrullus lanatus* observaram que um número considerável de brotos pode ser obtido por explante usando apenas meio MS suplementado com BAP. Esses trabalhos corroboram com os encontrados por Shalaby *et al.* (2008) que, além da gema apical, avaliaram também os cotilédones, sendo que ambos apresentaram uma maior porcentagem de explantes com brotos quando foi adicionado as seguintes concentrações de BAP no meio de cultura: 4,44; 10 e 24,61 μM . Contudo alguns estudos apontam que é necessário uma combinação do BAP com outro regulador vegetal para otimização da indução e multiplicação de brotos. Xuezheng *et al.* (2013) desenvolveram um sistema de alta frequência de regeneração de melancia usando duas linhagens W1-4 e W1-12, onde os rebentos foram induzidos a partir de nódulos cotiledonares cultivados em meio MS contendo várias concentrações de citocinina (6-benziladenina; BAP) e de auxina (ácido indolacético; AIA), sendo as maiores taxas de indução de brotos obtidas com as seguintes dosagens: 1,5 mg L^{-1} (BAP) + 0,2 mg L^{-1} (AIA) para 'W1-4' e 1,0 mg L^{-1} (BAP) + 0,1 mg L^{-1} (AIA) para 'W1-12'. Yalcin-Mendi *et al.* (2003) avaliando a cultivar Crimson Sweet e Li *et al.* (2011) a cultivar Zaojia, também testaram a eficiência da combinação BAP e AIA e os resultados mostraram-se satisfatórios para a indução de brotações. Chaturvedi & Bhatnagar (2001) pesquisando um protocolo para a cultivar Sugar Baby testaram várias concentrações de BAP sozinho ou em combinações com outra citocinina (2-isopenteniladenina – 2iP) ou com auxinas (AIA e ANA) e obtiveram um maior número

de brotos em meio MS com as seguintes concentrações: 3,0 μM (BAP) + 3,0 μM (2 iP) e 3,0 μM (BAP) + 3,0 μM (AIA).

Para o enraizamento de melancia os reguladores vegetais mais utilizados pertencem ao grupo das auxinas, sendo os mais empregados o ácido indolbutírico (AIB) e o ácido naftalenoacético (ANA). Khalekuzzaman *et al.* (2012) fizeram um estudo onde testaram a eficiência desses dois reguladores na indução de raízes a partir de brotos de um híbrido F1 de melancia cultivada *in vitro* e as melhores doses foram 0,5 mg L^{-1} (NAA) ou 1,0 mg L^{-1} (AIB) sozinhos. Porém o AIB foi superior ao ANA em todas as doses testadas pelos autores mencionados e obtiveram uma eficiência de 100% de enraizamento quando obtidos a partir da segunda passagem e cultivadas em meio MS com 1,0 mg L^{-1} de AIB. Na literatura existem diversos trabalhos em que o AIB foi usado para a indução de raízes, no entanto, as concentrações utilizadas foram bastante variadas como podem ser vistas nos trabalhos de Khatun *et al.* (2010); Okumuş *et al.* (2011); Huang *et al.* (2011); Badr-Elden *et al.* (2012) e Kothari *et al.* (2013). Da mesma forma, também existem trabalhos realizados com o regulador ANA como os de Chaturvedi & Bhatnagar, (2001); Pirinç *et al.* (2003) e Shalaby *et al.* (2008). E ainda encontram-se estudos onde se avaliaram uma outra auxina, além das duas citadas, para o enraizamento das plântulas de melancia, o ácido indolacético (AIA), realizados por Barnes (1979) e por Xuezheng *et al.* (2013).

A aclimatização é a etapa final do processo de obtenção de plantas através da cultura de tecidos e refere-se à transferência de plântulas *in vitro* para um ambiente protegido, sendo esse um processo basicamente artificial. A fase seguinte ocorre quando as plantas se ajustam a um novo clima ou situação como resultado de um processo essencialmente natural e recebe o nome de aclimatação (Guerra & Nodari, 2006). Estas são fases críticas para a micropropagação, pois um grande número de plantas não sobrevive quando são transferidas das condições *in vitro* para o ambiente externo. No entanto, algumas pesquisas foram realizadas com sucesso em protocolos de melancia como as estudadas por Khatun *et al.* (2010); Okumuş *et al.* (2011) e Khalekuzzaman *et al.* (2012).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Biotecnologia da Embrapa Semiárido, em Petrolina – PE, onde inicialmente, foram usados, como explantes, sementes inteiras de melancia de uma linha da cv. Sugar Baby (linha 44), do Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro que se encontra localizado na Embrapa Semiárido, Petrolina-PE e que devido à pouca disponibilidade desse material foram utilizadas apenas 25 sementes para a germinação. Estas, no interior da capela de fluxo laminar, foram desinfestadas por 15 minutos em solução a 0,5% de hipoclorito de sódio comercial adicionada de uma gota de Tween 20 para cada 100 mL de solução, seguida por três submersões sucessivas de cinco minutos cada uma em água destilada e autoclavada. Após a desinfestação, as sementes foram inoculadas em tubos de ensaio contendo 20 mL de meio de cultura composto de sais MS (Murashige & Skoog, 1962) e vitaminas de White, com metade da concentração de sais inorgânicos, 10 g L⁻¹ de sacarose, 6,5 g L⁻¹ ágar, 100 mg L⁻¹ inositol, sem reguladores vegetais, pH de 5,9 e esterilizado por autoclavagem (121 °C, por 20 minutos) (Figuras 1 e 2). Após a inoculação no meio nutritivo, as culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2°C, umidade relativa de 60% e fotoperíodo de 16 horas até sua germinação *in vitro*.

As plântulas germinadas *in vitro*, foram subdividas para darem início a cultura estoque que foi usada posteriormente nos tratamentos deste experimento e o meio de cultura utilizado para a manutenção da mesma foi preparado de acordo com a formulação de sais inorgânicos MS (Murashige & Skoog, 1962) e vitaminas de White, 100 mg L⁻¹ de inositol; 6,5 g L⁻¹ de agar, 30 g L⁻¹ de sacarose; 0,05 mg L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BAP); 0,05 mg L⁻¹ de ácido indolacético (AIA); pH 5,9 e esterilizado por autoclavagem (121 °C, por 20 minutos). Estas plântulas foram subcultivadas e colocados neste mesmo meio de cultura por mais cinco vezes para se obter um número de explantes suficientes para dar início aos tratamentos.



Figura 1. Detalhe da inoculação de uma semente melancia da linha da cv. Sugar Baby em meio MS colocado em tubo de ensaio. Embrapa Semiárido, Petrolina, 2014.



Figura 2. Detalhe dos tubos de ensaio com as sementes da linha da cv. Sugar Baby inoculadas em meio MS e colocadas em um rack na câmara de crescimento. Embrapa Semiárido, Petrolina, 2014.

Foram realizados dois experimentos, um para indução de brotações e outro para indução de raízes. Para a indução de brotos foram utilizados como explantes, segmentos apicais e nodais, com gemas ou brotos, ambos sem folhas velhas e com aproximadamente um centímetro de comprimento, todos oriundos da cultura estoque supracitada. Estes foram individualmente inoculados, na posição vertical, em tubos de ensaio contendo 20 mL meio de cultura contendo sais MS (Murashige & Skoog, 1962) e

vitaminas de White, com 30 g L⁻¹ de sacarose; 6,5 g L⁻¹ de agar; pH de 5,9 e variando as concentrações de BAP (em µM): 0,0- 0,25 - 0,5- 0,75 - 1,0.

As culturas foram mantidas por 40 dias na sala de crescimento, com temperatura, umidade relativa e fotoperíodo controlados (25±2; 60% e 16 horas, respectivamente) (Figura 3).

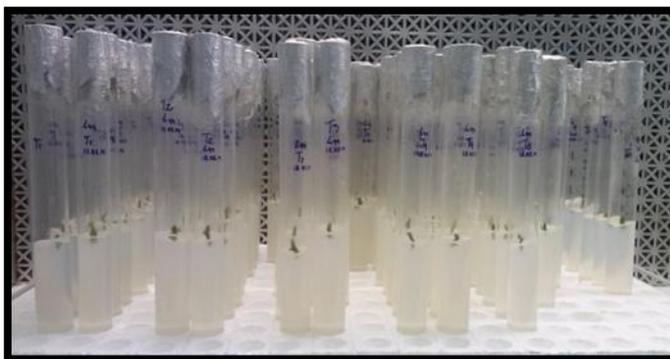


Figura 3. Plântulas nos tubos de ensaio na sala de crescimento. Embrapa Semiárido, Petrolina, 2014.

Decorrido este período, foram tomados dados referentes ao número médio de brotos (NMB), comprimento dos brotos (CB, em cm), número médio de raízes (NMR) e comprimento das raízes (CR, em cm). Após a avaliação, as plantas foram subcultivadas e seus brotos foram transferidos para um novo meio de cultura contendo as mesmas concentrações de BAP citadas, com o propósito de avaliá-las novamente aos 60 dias de cultivo.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (concentrações de BAP: T1 - 0,0 µM; T2 - 0,25 µM; T3 - 0,5 µM; T4 - 0,75 µM e T5 - 1,0 µM), cinco repetições e a unidade experimental composta de quatro tubos de ensaio contendo um explante por tubo.

Os explantes com aproximadamente dois cm de altura foram, em seguida, subcultivados e inoculados em tubos de ensaio com 10 mL L⁻¹ de meio MS sem regulador vegetal por 20 dias, com a finalidade de retirar traços de BAP dos mesmos e iniciar o segundo experimento de enraizamento. Este consistiu na inoculação dos explantes em tubos ensaio com 10 mL L⁻¹ de meio MS com quatro doses de ácido indolbutírico (AIB) e foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (concentração de AIB: T1 - 0,0 mg L⁻¹; T2 - 0,5 mg L⁻¹; T3 - 1,0 mg L⁻¹; T4 - 2,0 mg L⁻¹), cinco repetições e a unidade experimental composta de quatro tubos de ensaio contendo um explante por tubo.

Após 30 dias de inoculação foram registrados o número médio de raízes (NMR) e comprimento das raízes (CR, em cm). As análises estatísticas foram realizadas usando-se o programa Sisvar (Ferreira, 2011), onde foi feita a análise de variância e usado o teste de comparação de médias de Scott Knott a 5% de probabilidade. Os dados de contagem foram transformados usando a raiz quadrada $(\hat{y} + 0,5)^{1/2}$ (Zar, 1984).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A germinação *in vitro* das sementes do acesso 44 foi de 56% mostrando-se superior aos resultados encontrados por Silva *et al.* (2012) que testaram a germinação *in vitro* de sementes de porongo (*Lagenaria siceraria* (Mol.) Stand.) e concluíram que a escarificação e a embebição de sementes inteiras não possibilitou a germinação em nenhum dos tratamentos testados, sendo necessária a retirada do tegumento para que a mesma ocorresse. Porém, esta superioridade pode estar relacionada ao fato das sementes pertencerem a espécies diferentes, apesar de serem da mesma família, além das distintas assepsias aplicadas. Já quando comparados com o experimento realizado por Li *et al.* (2011) com sementes de melancia da cv. Zaojia esse resultado mostrou-se inferior, uma vez que os autores obtiveram uma germinação de 76% em condições de luminosidade e de 96% no escuro contínuo. Esta diferença pode ter ocorrido devido à ausência de tegumento nas sementes utilizadas pelos pesquisadores citados, bem como a diferença de cultivares e de tipo de assepsia.

Apesar da superioridade da germinação do presente trabalho em relação ao realizado por Silva *et al.* (2012), o número de mudas obtidas foi apenas 14, o que acarretou a necessidade de se fazer cinco subcultivos para se obter o número de plantas adequados da cultura estoque e assim se iniciar os tratamentos com os reguladores vegetais.

A variável número médio de brotos não diferiu estatisticamente quando avaliada aos 40 dias de cultivo (Tabela 1), porém teve um aumento significativo para todos os tratamentos após 60 dias de cultivo, com exceção do controle (T1 - 0,0 μ M de BAP), onde a análise do número médio de brotos mostra que o tratamento T4 (T4 - 0,75 μ M de BAP) foi o mais eficiente para a indução de brotações de melancia (Tabela 1). Já a variável comprimento médio de brotos não apresentou diferença estatística em nenhum dos tratamentos avaliados aos 40 e aos 60 dias de cultivo (Tabela 1), conforme pode ser observado nas Figuras 4 e 5 que mostram o aspecto das plantas aos 40 e 60 dias, respectivamente.

Tabela 1: Valores médios do número médio dos brotos (NMB) e do comprimento dos brotos (CB, em cm), do acesso 44 avaliados com diferentes doses de BAP.

TRATAMENTO (μM de BAP)	NMB (40 dias)	NMB (60 dias)	CB (40 dias) (cm)	CB (60 dias) (cm)
T1- (0,0)	1,035 A	0,821 C	0,272 A	0,306 A
T2 - (0,25)	1,002 A	1,526 B	0,382 A	0,864 A
T3 - (0,50)	1,090 A	1,220 C	0,556 A	0,660 A
T4 - (0,75)	1,301 A	2,072 A	0,744 A	0,282 A
T5 - (1,0)	0,903 A	1,523 B	0,272 A	0,400 A
CV(%)	20,19	25,57	68,09	111,42

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.



Figura 4. Aspecto das plântulas do acesso 44 aos 40 dias de cultivo em função de doses de BAP (1 = T1 (0,0 μM de BAP); 2 = T2 (0,25 μM de BAP); 3 = T3 (0,50 μM de BAP); 4 = T4 (0,75 μM de BAP); 5 = T5 (1,0 μM de BAP). Embrapa Semiárido, Petrolina, 2014.

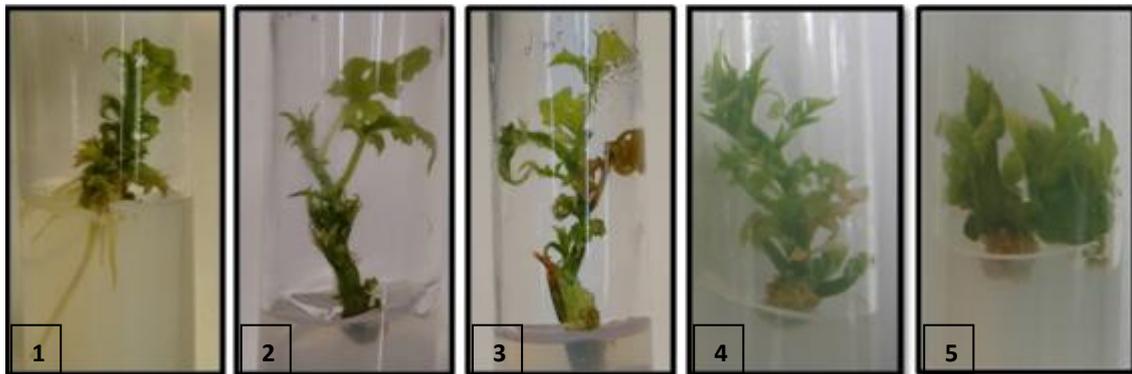


Figura 5. Aspecto das plântulas do acesso 44 aos 60 dias de cultivo em função de doses de BAP (1 = T1 (0,0 μM de BAP); 2 = T2 (0,25 μM de BAP); 3 = T3 (0,50 μM de BAP); 4 = T4 (0,75 μM de BAP); 5 = T5 (1,0 μM de BAP)). Embrapa Semiárido, Petrolina, 2014.

Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Compton & Gray (1993b), que estudando o cultivo de gemas apicais de plantas de melancia diplóides e tetraplóides por um período de seis meses, observaram que o número de gemas por explante foi geralmente baixo durante o primeiro mês da cultura, mas quase dobrou durante as duas subculturas subsequentes, notando uma interação entre o genótipo e a duração do tempo (meses) na cultura.

A indução da multiplicação de brotos depende da concentração e do tipo de regulador vegetal utilizado. Geralmente utilizam-se as citocininas, pois controlam a divisão celular e estão ligadas com a diferenciação das células, sobretudo no processo de formação de gemas caulinares (Kerbaui, 2008). O BAP é a citocinina mais empregada no cultivo *in vitro* de melancia, sendo considerado crítico para indução de brotações e diferenciação a partir de explantes cotiledonares (Dong & Jia, 1991), como visto nos trabalhos de Compton & Gray (1993a), Yalcin-Mendi *et al.* (2003) e Pirinç *et al.* (2003), que em estudos para regeneração de plantas de melancia a partir de cotilédones, utilizaram altos valores de BAP para a indução de brotos. Resultados obtidos por Shalaby *et al.* (2008), utilizando cotilédones e gemas apicais em experimentos com dois híbridos triplóides de melancia, também requereram altas concentrações de citocinina para a indução e multiplicação de brotos, sendo as melhores taxas obtidas em meio MS suplementado com 4,44; 10,0 e 24,61 μM de BAP. Já Okumus *et al.* (2011) e Khalekuzzaman *et al.* (2012), em experimentos com ápices caulinares de melancias, relataram que a melhor concentração de BAP variou entre 0,5 e 2 mg L^{-1} de BAP para a multiplicação de brotos.

Estes resultados diferem daqueles obtidos no presente trabalho, onde a maior concentração de BAP (1,0 μM) não foi necessariamente a melhor para indução de brotos, ocorrendo hiperidricidade em algumas plantas, sendo o tratamento T4 (0,75 μM de BAP) mais eficiente. Esta diferença pode estar relacionada ao genótipo utilizado, pois cada genótipo responde de uma forma diferente à micropropagação, havendo diferença inclusive com relação à ploidia, como pode ser visto no trabalho de Compton & Gray (1993b), onde as cultivares diplóides tiveram maior número de brotos, quando comparadas às melancias triplóides e tetraplóides.

Experimentos com a combinação de BAP e outros reguladores para a indução de brotos foram mostrados nos estudos de Chaturvedi & Bhatnagar (2001), em melancia cv. Sugar Baby, onde a maior porcentagem de brotos foi obtida no meio MS suplementado com BAP (3,0 μM) e ácido indolacético (AIA) (3,0 μM) ou BAP (3,0 μM) e 2-isopenteniladenina (2iP) (3,0 μM). Xuezheng *et al.* (2013), estudando a regeneração de duas linhagens de melancia, relataram que a combinação de BAP e AIA eram fundamentais para otimizar a indução de brotos, fato confirmado em estudos realizados por Li *et al.* (2011), com a cv. Zaojia, os quais concluíram que a melhor taxa de indução de brotos foi obtida com a combinação de BAP (2 mg L⁻¹) e AIA (0,2 mg L⁻¹). No entanto, os resultados encontrados para a indução de brotos não diferiram estatisticamente quando se usou apenas BAP (2 mg L⁻¹) tanto nas pesquisas de Xuezheng *et al.* (2013) quanto no trabalho de Li *et al.* (2011). Além disso, segundo Srivastava *et al.* (1989) e Compton & Gray (1993a), a combinação da citocinina com auxina inibiu a indução de brotos, possivelmente porque a primeira neutraliza os efeitos da segunda. O que todos os autores concordam e o presente trabalho corrobora, é que o BAP é essencial para a micropropagação de melancia *in vitro* e que sua concentração depende da cultivar avaliada, entretanto, em elevadas concentrações, pode causar a hiperidricidade nas plantas (Compton & Gray, 1992; Compton & Gray, 1993b; Pirinç *et al.*, 2003), conforme aconteceu neste trabalho. Com relação ao enraizamento das plantas, observou-se que na primeira análise feita aos 40 dias de cultivo, houve diferença significativa somente para o número médio de raízes (Tabela 2), onde o tratamento desprovido de BAP foi notadamente superior aos demais, fato este que se repetiu na segunda avaliação aos 60 dias de cultivo. Porém desta vez, também se observou que o comprimento médio das raízes foi maior na testemunha T1(1,0 μM de

BAP) (Tabela 2). Foi observado que nos tratamentos T4 (0,75 μM de BAP) e T5 (1,0 μM de BAP), que continham as maiores concentrações de BAP, houve inibição do crescimento das raízes, indicando que a presença de citocinina pode ser inibitória para a formação de raízes, como foi observado por Shalaby *et al.* (2008) em dois híbridos triploides de melancia e por Dilson *et al.* (2006) no cultivo *in vitro* de mogango, que relataram que a adição de BAP no meio de cultura melhoram as taxas de multiplicação de brotos, porém em altas concentrações reduz o enraizamento.

Tabela 2: Valores do número médio de raízes (NMR) e do comprimento médio das raízes (CR, em cm) do acesso 44 avaliados com diferentes dosagens de BAP.

TRATAMENTO (μM de BAP)	NMR (40 dias)	NMR (60 dias)	CR (40 dias) (cm)	CR (60 dias) (cm)
T1- (0,0)	2,385 A	2,253 A	0,458 A	0,870 A
T2 - (0,25)	0,995 B	1,024 B	0,174 A	0,326 B
T3 - (0,50)	0,707 B	0,810 B	0,000 A	0,160 B
T4 - (0,75)	0,738 B	0,707 B	0,010 A	0,000 B
T5 - (1,0)	0,707 B	0,707 B	0,000 A	0,000 B
CV(%)	46,44	38,49	218,04	118,63

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Os altos valores encontrados no coeficiente de variação para as variáveis analisadas possivelmente se devem às diferenças dos explantes, pois foram utilizados segmentos apicais e nodais no experimento devido à baixa germinação *in vitro* dos explantes da linha 44 e é possível que esses diferentes tipos tenham desempenho diferenciados induzindo grande variação dentro dos tratamentos.

Geralmente utiliza-se alguma auxina para a indução de raízes em melancia, sendo mais comumente utilizado o ácido indolbutírico (AIB) (Krug *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2013) e o ácido naftalenoacético (ANA) (Dong & Jia, 1991; Compton & Gray, 1993 a; Piring *et al.*, 2003; Shalaby *et al.*, 2008; Huang *et al.*, 2010). Um estudo testando a eficiência desses dois reguladores vegetais foi realizado por Khalekuzzaman *et al.* (2012) a partir de brotos apicais de um híbrido F1 de melancia cultivada *in vitro*, onde verificaram uma eficiência de 100% de enraizamento quando obtidos a partir da segunda passagem e cultivadas em meio MS com 1,0 mg L⁻¹ de AIB. Este trabalho corrobora com os de Khatun *et al.* (2010) e Okumus *et al.* (2011), pois ambos também avaliaram diferentes concentrações de AIB em meio MS para a micropropagação de *Citrullus lanatus* e concluíram que um mg L⁻¹ é a melhor dose para a indução de raízes. No entanto, estes resultados diferem dos encontrados neste trabalho quando foi feito o experimento de enraizamento com AIB, pois a presença do regulador vegetal no meio de cultura não induziu a formação de raízes, sendo o melhor tratamento a testemunha T1 (0,0 mg L⁻¹ de AIB) como pode ser visto na Tabela 3. Isto pode ter acontecido devido à hiperhidricidades que ocorreu nos explantes na presença de AIB, especialmente no T4 (2 mg L⁻¹ de AIB) onde praticamente todos vitrificaram. A hiperhidricidade é considerada uma desordem fisiológica, bioquímica e morfológica decorrente do acúmulo anormal de água no interior das células e tecidos e, de uma maneira geral, resulta em um aspecto translúcido característico, por isso também recebe às vezes o nome de vitrificação (Vasconcelos *et al.*, 2012). Existem várias razões para que este fenômeno ocorra que vão desde fatores físicos, relacionados ao ambiente dos recipientes de cultivo e consistência do meio de cultura, como químicos, relacionados aos componentes do meio de cultura, principalmente as altas concentrações dos reguladores de crescimento (Vasconcelos *et al.*, 2012). Além disso, a suscetibilidade e os sintomas podem variar entre espécies (Gaspar *et al.*, 1987) ou mesmo entre cultivares de uma mesma espécie (Fráguas *et al.*, 2009; Vasconcelos *et al.*, 2012). Isso pode explicar o fato da linha da cultivar estudada não ter apresentado um bom desempenho de enraizamento na presença do regulador AIB em comparação a outros tratamentos de melancia que utilizaram este regulador vegetal (Khatun *et al.*, 2010; Badr-Elden *et al.*, 2012), pois esta linha mostrou-se bastante sensível à presença do mesmo, havendo hiperhidricidade dos explantes principalmente quando se aumentou a dose para 2 mg L⁻¹.

Tabela 3: Valores do número médio de raízes (NMR) e comprimento médio das raízes (CR, em cm) do acesso 44 avaliados com diferentes doses de AIB.

TRATAMENTO (mg L ⁻¹ de AIB)	NMR	CR (cm)
T1- (0,0)	2,017 A	1,312 A
T2 - (0,5)	1,157 B	0,228 B
T3 - (1,0)	1,035 B	0,106 B
T4 - (2,0)	0,707 B	0,000 B
CV(%)	28,14	61,09

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Outro ponto que merece ser levado em consideração foi destacado por Compton & Gray (1993b), onde afirmaram que a porcentagem de brotos enraizados depende do genótipo e da quantidade de tempo em cultura. Muitos trabalhos que tem sido feito com enraizamento de plantas, são realizados com plantas com poucas passagens no meio de cultura; normalmente o explante passa somente pelas fases de estabelecimento, alongamento e enraizamento, sendo desta forma subdivididos no máximo três vezes, como pode ser visto nos experimentos de Shalaby *et al.* (2008), Khatun *et al.* (2010), Okumus *et al.* (2011) e Khalekuzzaman *et al.* (2012), logo estas plantas possuem uma maior reserva nutricional, estão mais vigorosas e tendem a ter um melhor desempenho quando comparadas com outras que tiveram um grande número de subcultivos como foi feito neste experimento.

As hipóteses relatadas sobre o desempenho dos explantes no meio de cultura MS suplementado com AIB com relação ao número médio de raízes servem também para explicar o comportamento da outra variável analisada, o comprimento médio das raízes

(Tabela 3), pois novamente a testemunha (T1- 0,0 mg L⁻¹ de AIB) foi o tratamento que obteve os melhores resultados uma vez que as plântulas não apresentaram hiperidricidade.

Todavia, este trabalho mostrou-se diferente dos apresentados por Khatun *et al.* (2010) e por Badr-Elden *et al.* (2012) que estudando o cultivo *in vitro* da espécie *Citrullus lanatus* em meio MS suplementado com diferentes doses de AIB provaram que este era necessário para o bom desenvolvimento das raízes, sendo 1 mg L⁻¹ de AIB considerada a melhor dose para os primeiros autores e 0,50 mg L⁻¹ de AIB a melhor dose para os segundos autores. Um estudo semelhante aos anteriormente mencionados foi efetivado por Kothari *et al.* (2013) com outra espécie de melancia, a *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad., onde também constataram que 4,9 µM de AIB que equivale a um mg L⁻¹ de AIB resultaram num maior comprimento das raízes. Em contrapartida a estes dados, encontra-se os trabalhos realizados por Dilson *et al.* (2006) no cultivo *in vitro* de mogango e por Zhang *et al.* (2011) que avaliaram duas linhagens de melão, pois ambos encontraram resultados semelhantes aos deste trabalho, onde o meio de cultura sem reguladores vegetais induziu a produção de raízes.

5. CONCLUSÕES

Nas condições experimentais adotadas, o BAP mostrou-se eficiente na indução de brotos de melancia da linha 44, cv. Sugar Baby e não há necessidade de inserir o regulador vegetal AIB para induzir o enraizamento das plântulas.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este protocolo poderá, também, auxiliar estudos, como os de melhoramento genético, onde se utilizam métodos de avaliação destrutiva e carecem de alto número de plantas. Para tanto, será necessário se examinar o comportamento dos acessos a serem avaliados e como eles reagem às diferentes fases da micropropagação *in vitro*. Uma vez obtido o protocolo, alguns clones seriam avaliados quanto à reação ao estresse biótico (*Meloidogyne* spp., por exemplo) e os demais seriam mantidos *in vitro* para que os eventuais genótipos que se mostrarem resistentes possam ser resgatados.

Os resultados do trabalho também podem ser aplicados para uma rápida obtenção de um grande número de mudas de híbridos triplóides, que, em geral, tem elevados custos em comparação com as sementes das cultivares com sementes. Desta forma, se poderá conduzir experimentos para se fazer os estudos básicos, conhecer os requerimentos específicos do genótipo e fazer os procedimentos para se obter as mudas para plantio.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANANTHAKRISHNAN, G.; XIA, X.; ELMAN, C.; SINGER, S.; GALON, A. & GABA, V. Shoot production in squash (*Cucurbita pepo*) by *in vitro* organogenesis. *Plant Cell Reports*, Berlin, v. 2, p. 739-746, 2003.

ALVARENGA, M.A.R. & REZENDE, G.M. *Cultura da melancia*. Lavras - MG: Ed. UFLA, 2002. 133p.

ANUÁRIO DA AGRICULTURA BRASILEIRA. *Agrianual*. São Paulo: Instituto FNP, p. 465, 2011.

ARAÚJO, J.L.P.; CORREIA, R.C.; MARINHO, L.M. & RAMALHO, P.J.P. Estudo da composição dos custos e da viabilidade econômica do Sistema de produção de melancia na região do Submédio São Francisco. 2008. <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPATSA/36808/1/OPB1646.pdf> Acesso em: 22 jun. 2013.

ARAÚJO, J.L.P. Custos e viabilidade de produção de melancia no Submédio São Francisco. 2008. <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/161630>. Acesso em: 22 de jun. 2013.

BADR-ELDEN, A.M.; NOWER, A.A.; IBRAHIM, I.A.; EBRAHIM, M.K.H. & ELAZIEM, T.M.A. Minimizing the hyperhydricity associated with *in vitro* growth and development of watermelon by modifying the culture conditions. *African Journal of Biotechnology*, v. 11, n. 35, p. 8705-8717, 2012

BARNES, L.R. *In vitro* propagation of watermelon. *Scientia Horticulturae*, v.11, p. 223-227, 1979.

BARROSO, G.M. *Sistemática de angiospermas do Brasil*. Livro Técnico e Científico. EDUSP, São Paulo, 1978. 225p.

BERTOZZO, F. & MACHADO, I.S. Meios de cultura no desenvolvimento de ápices caulinares de mamoneira (*Ricinus communis* L.) *in vitro*. In: *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 34, n. 6, p. 1477-1482, 2010.

BISOGNIN, D.A.; SILVA, A.L.L.; HORBACK, M.A.; JUNIOR GIROTTO & BARRIQUELLO, C. J. Germinação e propagação *in vitro* de porongo. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 332-339, 2008

CARVALHO, J.M.F.C.; LIMA, M.M.A.; AIRES, P.S.R.; VIDAL, M.S. & PIMENTEL, N.W. *Embriogênese somática*, (Documentos 152) – Campina Grande, PB. Embrapa Algodão, p. 35, 2006.

CHATURVEDI, R. & BHATNAGAR, S.P. High-frequency shoot regeneration from cotyledon explants of watermelon cv. Sugar Baby. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, v. 37, p. 255-258, 2001.

CHAWLA, H.S. Introduction to plant biotechnology. 2nd. ed. Enfield: Science Publishers, 2004. 538 p.

CHEE, P.P. Initiation and maturation of somatic embryos of *Cucurbita pepo*. Hortscience, Alexandria, v. 27, p. 59-60, 1992.

COMPTON, M.E.; GRAY, D.J. & GABA, V.P. Use of tissue culture and biotechnology for the genetic improvement of watermelon. Plant, Cell, Tissue and Organ Culture, Dordrecht, v. 77, p. 231-243, 2004.

COMPTON, M.E. Interaction between explants size and cultivar impacts shoot organogenic competence of watermelon cotyledons. Hortscience, Alexandria, v. 35, p. 749-750, 2000.

COMPTON, M.E. & GRAY, D.J. Adventitious Shoot Organogenesis and Plant Regeneration from Cotyledons of Tetraploid Watermelon. Hortscience v.29, n.3, p. 211-213, 1994.

COMPTON, M.E. & GRAY, D.J. Shoot organogenesis and plant regeneration from cotyledons of diploid, triploid and tetraploid watermelon. Journal of the American Society for Horticultural Science, v. 118, p. 151-157, 1993a.

COMPTON, M.E.; GRAY, D.J. & ELMSTROM, G.W. A simple protocol for micropropagating diploid and tetraploid watermelon using shoot-tip explants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, v. 33, p. 211-217, 1993b.

COMPTON, M.E. & GRAY, D.J. Micropropagation as a mean of rapidly propagating triploid and tetraploid watermelon *Citrullus lanatus* (Thunb.). Proceedings of Florida State Horticultural Society, v. 105, p. 352-354, 1992.

CORREA, S.M.S. Africanidades na paisagem brasileira. Revista Internacional Interdiscinar Interthesis, Florianópolis-SC, v.7, p. 96-116, 2010.

COSTA FILHO, J.H. Coleta e reação de acessos de melancia a *Meloidogyne enterolobii*. 54f. Dissertação de mestrado: Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, 2012.

COSTA, C.P. & PINTO, C.A.B.P. Melhoramento da melancia. In: COSTA C.P & PINTO C.A.B.P. (eds) Melhoramento de Hortaliças: revisão. 2nd ed. UDUSP, São Paulo, 1977. p. 196-209.

DIAS, R.C.S.; SILVA, C.M.J.; QUEIROZ, M.A.; COSTA, N.D.; SOUZA, F.F.; SANTOS, M.H.; PAIVA, L.B.; BARBOSA, G.S. & MEDEIROS, K.N. Desempenho agrônômico de linhas de melancia com resistência ao oídio. In: Congresso Brasileiro de Olericultura, Goiânia. Anais..., Horticultura Brasileira, v. 24, p. 1416-1418, 2006.

DIAS, R.C.S.; BARBOSA, G.S.; SOUZA, F.F.; QUEIROZ, M.A.; RESENDE, G.M. & COSTA, N.D. 2010. Sistema de produção de melancia.

<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Melancia/SistemaProducaoMelancia/cultivares.htm>. Acesso em: 23 jun. 2013.

DIAS, R.C.S. & REZENDE, G.M. Embrapa – Sistema de Produção da melancia. Embrapa semiárido. Sistemas de produção. Versão eletrônica. Ago/2010.<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Melancia/SistemaProducaoMelancia.htm>. Acessado em: 18 out. 2014.

DONG, J.Z. & JIA, S.R. High efficiency plant regeneration from cotyledons of watermelon (*Citrullus vulgaris* Schrad.). *Plant Cell Report*, v. 9, p. 559-562, 1991.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Faostat 2010. <http://www.faostat.org/>. Acesso em: 22 jun. 2013.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia (UFLA)*, v. 35, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, M.E.; CALDAS, L.S. & PEREIRA, E.A. Aplicações da cultura de tecidos no melhoramento genético de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: Embrapa- SPI: Embrapa- CNPH, 1998. p. 21- 44.

FILGUEIRA, F.A.R. *Novo Manual de Olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. 2ª ed. Viçosa: UFV. 2003. 412p.

FRÁGUAS, C.B.; DORNELLES' C.M.V. & LIMA, G.P.P. Benzilaminopurina e ácido naftaleno acético na indução e multiplicação *in vitro* de gemas de abacaxizeiro da cultivar 'IAC Gomo-de-mel'. *Ciencia Rural*, v. 39, n. 6, Santa Maria, 2009.

GAHAN, P.B. & GEORGE, E.F. Adventitious Regeneration. In: GEORGE, E.F.; HALL, M.A. & KLERK, G-J. *Plant Propagation by Tissue Culture*. 3 ed. v. 1. Springer, 2008.

GASPAR T.; KEVERS, C. DEBERGH, P.; MAENE, L.; PAQUES, M & BOXUS, P. Vitrification: morphological, physiological and ecological aspects. In: BONGA JM, DURZAN DJ (Ed.). *Cell and tissue culture in forestry*. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers, 1987. p.152-166.

GUERRA, M.P.; NODARI, R.O. *Apostila de Biotecnologia 1: cultura de tecidos vegetais*. Florianópolis: UFSC/Steinmacher, 2006. 41p.

GUNER N.; WEHNER T.C. Overview of Potyvirus resistance in watermelon. In: *Cucurbitaceae - Proceedings of the IX the EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae*. 2008.

HABERLANDT, G. Kulturversuche mit isolierten Pflanzenzellen. *Sitzungsber. Math. Naturwiss. Kl. Kais. Akad. Wiss. Wien.*, v.111, p.69-92, 1902.

HUANG, Y.C.; CHIANG, C.H.; LI, C.M. & YU, T.A. Transgenic watermelon lines expressing the nucleocapsid gene of Watermelon silver mottle virus and the role of thiamine in reducing hyperhydricity in regenerated shoots. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v.106, p. 21-29, 2010.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2013/PAM2013_Publicacao_completa.pdf. Acesso em: 14 jul. 2015.

JAIN, J. & MORE, T.A. *In vitro* regeneration in *Cucumis melo* cv. Pusa Madhuras. *Cucurbit Genetics Cooperative Reports*, v. 15, p. 62-64, 1992.

JIMÉNEZ, V.M.. Regulation of *in vitro* somatic embryogenesis with emphasis on the role of endogenous hormones. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v.13, p. 196-223, 2001.

KHALEKUZZAMAN, M.; KHATUN M.S.T.M.; RASHID, M.H.; SHEIKH, M.I.; SHARMIN, A.S. & ALAM, I. Micropropagation of an Elite F1 Watermelon (*Citrullus lanatus*) Hybrid from the Shoot Tip of Field Grown Plants. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 55, p. 335-340, 2012.

KHATUN, M.M.; HOSSAIN, M.S.; HAQUE, M.A. & KHALEKUZZAMAN, M. *In vitro* propagation of *Citrullus lanatus* Thumb. from nodal explants culture. *Journal of Bangladesh Agricultural University*, v. 8, n.2, p. 203–206, 2010.

KERBAUY, G.B. *Fisiologia vegetal*. Ed. Guanabara Koogan, 2ª Ed. Rio de Janeiro, 2008. 431p.

KIM, J.W.; HAN, S.K.; KNON, S.Y.; LEE, H.S.; LIM, Y.P.; LIU, J.W & KWAK, S.S. High frequency shoot induction and plant regeneration from cotyledonary hypocotyl explants of cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings. *Journal of Plant Physiology*, Stuttgart, v. 157, p. 136-139, 2000.

KOTHARI, S.L.; VERMA, K.S. & KACHHWAHA, S. *In vitro* plant regeneration of *Citrullus colocynthis* (L.) Schard. and assessment of genetic fidelity using ISSR and RAPD markers. *Indian Journal of Biotechnology*, v.12, p. 409-414, 2013.

KRUG, M.G.Z.; STIPP, L.C.L.; RODRIGUEZ, A.P.M. & MENDES, B.M.J. *In vitro* organogenesis of *Citrullus lanatus*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 40, p. 861-865, 2005.

LEMOS, E.E.P. Organogênese. BARRUETO CID, L. P. (Ed.). *Cultivo in vitro de plantas*. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. p. 103-127.

LI, H.X.; LI, J.; LI, X.M.; QIN, Y.G.; TANG, Y.; WANG, L. & MA, C. Optimized system for plant regeneration of watermelon (*Citrullus lanatus* Thumb.). *African Journal of Biotechnology*, v. 10, n. 48, p. 9760-9765, 2011.

- MEEUSE, A.D. The Cucurbitaceae of Southern Africa. *Bothalia*. V. 8, p. 111, 1962.
- MOURA, T.L.; ALMEIDA, W.A.B; MENDES, B.M.J. & MOURÃO FILHO F.A.A. (2001) Organogênese *in vitro* de Citrus em função de concentrações de BAP e seccionamento do explante. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 23, p. 240- 245, 2001.
- MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue cultures. *Annual Review of Plant Physiology*, v. 25, p. 135-66, 1974.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, V. 15, P. 473-497, 1962.
- OKUMUŞ, V.; PİRİNÇ, V.; ONAY, A. & BAŞARAN, D. *In vitro* propagation of Diyarbakır watermelons and comparison of direct-seeded and transplanted watermelon. *Turkish Journal of Biology*, V. 35, P. 601-610, 2011.
- OLIVEIRA, M.M. Aplicações e avanços na área da biotecnologia vegetal. *Boletim de Biotecnologia*, n. 66, 2000.
- PINHO, D.S.; REY, M.S.; VIEIRA, A.; DANIELOWSKI, R.; BRAGA, E.J.B.; & PETERS, J.A. Regeneração *in vitro* de melão, cv. 'Gaúcho'. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.40, n.5, p.1083-1089, 2010.
- PINK, D.A.C. & WALKEY, D.G.A. Rapid propagation of Cucurbita pepo L. by culture of meristem tips. *Hortscience*, v. 24, p. 107-114, 1984.
- PIRİNÇ, V.; ONAY, A.; YILDIRIM, H.; ADIYAMAN, F.; ISIKALAN, Ç. & BASARAN, D. Adventitious shoot organogenesis and plant regeneration from cotyledons of diploid diyarbakir watermelon (*Citrullus lanatus* cv. Sürme). *Turkish Journal of Biology*, V. 27, p. 101-105, 2003.
- QUEIRÓZ, M.A. Germplasm of Cucurbitaceae in Brazil. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v. 4, p. 377-383, 2004.
- QUEIROZ, M.A.; DIAS, R.C.S.; FERREIRA M.A.J.F.; SOUZA F.F.; RAMOS, S.R.R.; ASSIS, J.G.A.; ROMÃO, R.L. & BORGES, R.M.E. Genetic resources and watermelon breeding at Embrapa Semi-Arido. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v. 1, n. 4, p. 301-312, 2001.
- QUEIROZ, M.A. de; DIAS, R. de C.S.; SOUZA, F. de F.; FERREIRA, M.A.J.F.; ASSIS, J.G.A.; BORGES, R.M.E.; ROMÃO, R.L.; RAMOS, S.R.R.; COSTA, M. S. V. & MOURA, M. C. C. L. Recursos genéticos e melhoramento de melancia no Nordeste brasileiro. In: QUEIRÓZ, M.A.; GOEDERT, C.O.; RAMOS, S.R.R. (Ed.). Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro. Petrolina: Embrapa Semi-Árido; Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. (online).

RAHMAN, S.M.; HOSSAIN, M.; ISLAM, R. & JOARDER, O.I. Plant regeneration from internode segments of *Cucurbita maxima* Dush. X *Cucurbita moschata* Dush. Current Science, Bangalore, v. 65, p. 562-266, 1993.

REBOUÇAS, F.S. Cultivo in vitro de Plantas Medicinais: *Ocimum basilicum* L. e *Cissus sicyoides* L. 2009, 61f. Dissertação de Mestrado: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2010.

RIBEIRO, J.M.; MELO, N.F.; ARAÚJO, F.P.; COELHO, A.K.N.S.; COELHO, M.S.E. & PINTO, M.S.T. Micropropagação de Goiabeira, Maracujazeiro, Bananeira e Videira. 2012 (Circular Técnica, 101 - Publicação Interna da Embrapa, Petrolina-PE, 2012.).

ROCHA, M.R. Sistema de cultivo para a cultura da melancia. 2010, 76f. Dissertação de mestrado: Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

ROMÃO, R.L. Dinâmica evolutiva e variabilidade de populações de melancia *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai em três regiões do Nordeste brasileiro. 1995. 75f. Dissertação de Mestrado: USP- ESALQ, Piracicaba, 1995.

SAPOUNTZAKIS, G. & TSAFTARIS, A.S. Micropropagation of the cucumber hybrids 'Brunex' and 'Bambina'. Cucurbit Genetics Cooperative Reports, v.17, p. 50-53, 1994.

SHALABY, T.A.; OMRAN, S.A. & BAILOUMI, Y.A. *In vitro* propagation of two triploid hybrids of watermelon through adventitious shoot organogenesis and shoot tip culture. Acta Biologica Szegediensis v. 52, n. 01, p. 27-31, 2008.

SILVA, G.T.M.A. Ocorrência de doenças em cucurbitáceas no sertão de Pernambuco, caracterização e avaliação de germoplasma de melancia. 71f. Dissertação de mestrado: Unidade Avançada de Serra Talhada (UAST) / Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Serra Talhada, 2015.

SILVA, A.F.; SANTOS, C.A.F.; ARAUJO, F.P.; LIMA NETO, F.P.; MOREIRA, J. N.; FERREIRA, M.A.J.F.; LEAO, P.C.S.; DIAS, R. C. S. & ALBUQUERQUE, S.G. Recursos genéticos vegetais conservados na Embrapa Semiarido. In: SA, I. B.; SILVA, P.C.G. (Ed.). Semiárido brasileiro: pesquisa, desenvolvimento e inovação. Petrolina: Embrapa Semiarido, 2010. cap. 8, p. 274-315.

SILVA, A.L.L.; BISOGNIN, D.A.; FRANCO, E.T.H.; HORBACH, M.A.; COSTA, J.L.; SCHEIDT, G.N.; ALVES, S.A.O. & BRONDANI, G.E. Germinação *in vitro* de sementes e indução de calos em plântulas, cotilédones e anteras de porongo (*Lagenaria siceraria* (Mol.) Stand.) – Cucurbitaceae v. 3, n. 4, p. 117-126, 2012.

SILVA, M.L. Caracterização morfológica e molecular de acessos de melancia. 2004. 70f. Dissertação de mestrado: Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2004.

SILVA, J.S. Evaporação e produção de melancia sob diferentes níveis de nitrogênio e da salinidade da água de irrigação. 2010. 96f. Dissertação de mestrado: Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, 2010.

SILVA, A.L.L. Germinação *in vitro* de sementes e morfogênese de porongo (*Lagenaria siceraria* (Mol.) Standl.) e mogango (*Cucurbita pepo* L.). 2005. 47f. Dissertação de mestrado: Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

SILVA, A.L.L.; BISOGNIN, D.A.; BARRIQUELLO, C.J. & GIROTTO, J. Organogênese direta de explantes cotiledonares e regeneração de plantas de mogango. *Ciência Rural*, v. 36, p. 992-995, 2006.

SKOOG, F. & MILLER, C.O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. Symposium of Society for Experimental Biology, New York, v. 11, p. 118-131, 1957.

SOUZA, F.F. Técnicas de propagação para plantas de melancia: ferramentas úteis no melhoramento genético da cultura. Documentos / Embrapa Rondônia, ISSN 0103-9865; 80, 2003.

SPETSIDIS, G.; SAPOUNTZAKIS, G. & TSAFTARIS, A.S. Micropropagation of the melon hybrid 'Galia'. *Cucurbit Genetics Cooperative Reports*, v. 19, p. 63-65, 1996.

SRIVASTAVA, D.R.; ANDRIANOV, V.M. & PIRUZIAN, E.S. Tissue culture and plant regeneration of watermelon (*Citrullus vulgus* Schrad. Cv. Melitopolski). *Plant Cell Rep.*, v. 8, p. 300-302, 1989.

STIPP, L.C.L. Transformação genética de abobrinha-de-moita e melancia para resistência ao *Papaya ringspot virus* – type Watermelon e ao *Zucchini yellow mosaic virus*. Tese Doutorado: Programa de Pós-Graduação em Ciências. Piracicaba, 2009. 97 p.: fig.

TEIXEIRA, T. Melancia. *Revista A Granja*. 2008. <http://www.edcentaurus.com.br/materias/granja>. Acesso em: 31 out. 2014.

TORRES, A.C.; TEIXEIRA, S.L.; POZZER, L. Cultura de ápices caulinares e recuperação de plantas livres de vírus. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. & BUSO, J.A. (Eds.). *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, v.1, 1998. p. 133.

VASCONCELOS, A.G.V.; TOMAS, L.F.; CAMARA, T.R. & WILLADINO, L. Hiperidricidade: uma desordem metabólica. *Ciência Rural*, v. 42, p. 837-844, 2012.

XUEZHENG, W.; LIMIN, S. & AND FEISHI, L. A highly efficient regeneration system for watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.). *Pak. J. Bot.*, v. 45, n. 01, p. 145-150, 2013.

WHITAKER, T.W. & BEMIS, W.B. Cucurbits. In: Simmonds NW (eds.) Evolution of crop plants. Longman, London, pp 64-69. 1976.

WHITE, P.R. Nutrient deficiency studies and an improved inorganic nutrient medium for cultivation of excised tomato roots. Growth, Lakeland, Fla , v. 7, p. 53-65, 1943.

YALCIN-MENDI, N.Y.; IPEK, M.; KACAN, H.; CURUK, S.; SARI, N.; CETINER, S. & GABA, V. A Histological Analysis of Regeneration in Watermelon. Journal of Plant Biochemistry & Biotechnology, v. 12, p. 147-150, 2003.

ZHANG, H.; PENG, G. & FEISHI, L. Horticulture. Efficient plant regeneration from cotyledonary node explants of *Cucumis melo* L. African Journal of Biotechnology, v. 10, n. 35, p. 6757-6761, 2011.

ZAR. J.H. Biostatistical analysis. 2nd ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, N.J. 1984.

ZIMMERMANN, M.J. Embriogênese somática. In: BARRUETO CID, L.P. (Ed.). Cultivo *in vitro* de plantas. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. p. 67-101.