



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
CURSO DE AGRONOMIA

FELIPE WALISSON LOPES DA COSTA

PRÉ-TRATAMENTOS TÉRMICOS E MEIOS DE CULTIVOS NA
CALOGÊNESE DE ANTERAS DE MELOEIRO.

FORTALEZA

2019

FELIPE WALISSON LOPES DA COSTA

PRÉ-TRATAMENTOS TÉRMICOS E MEIOS DE CULTIVOS NA CALOGÊNESE
DE ANTERAS DE MELOEIRO.

Monografia apresentada ao Curso de Agronomia do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientadora: Prof. Dr^a. Cândida Hermínia Campos de Magalhães Bertini.
Coorientadora: Dr^a. Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho.

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C872p Costa, Felipe Walisson Lopes da.
Pré-tratamentos térmicos e meios de cultivos na calogênese de anteras de meloeiro / Felipe Walisson Lopes da Costa. – 2019.
37 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Agronomia, Fortaleza, 2019.

Orientação: Profa. Dra. Cândida Hermínia Campos de Magalhães Bertini.
Coorientação: Profa. Dra. Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho.

1. Cucumis melo L. 2. Androgênese. 3. Dihaploides. I. Título.

CDD 630

FELIPE WALISSON LOPES DA COSTA

PRÉ-TRATAMENTOS TÉRMICOS E MEIOS DE CULTIVOS NA CALOGÊNESE
DE ANTERAS DE MELOEIRO

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Agronomia do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Aprovada em: 22/11/2019..

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr^a. Cândida Hermínia Campos de Magalhães Bertini (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr^a. Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho (Coorientadora)
Embrapa Agroindústria Tropical/ CNPAT

Prof. Dr. Fernando Antonio Souza de Aragão
Embrapa Agroindústria Tropical/CNPAT

Dr. Frederico Inácio Costa de Oliveira
CNPQ/ Embrapa Agroindústria Tropical/UFC

A Deus.

Aos meus pais, a minha família.

AGRADECIMENTOS

A Deus primeiramente, por estar ao meu lado em todos os momentos difíceis, pelos choros de madrugada, por ter me dado forças para terminar esse momento importante em minha vida e por todos aqueles que ainda virão.

À EMBRAPA, por fornecer todo o material, instalações para a execução deste trabalho.

À Prof. Dr^a. Cândida Hermínia Campos de Magalhães, por ter despertado em mim o conhecimento pelo melhoramento genético e pelos puxões de orelha; peço desculpas por todas as vezes que me esqueci de responder seus e-mails.

À Dr^a. Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho, por ter me acolhido no momento de desespero para a realização deste trabalho, pelo conhecimento compartilhado, pelo exemplo de humano que é minha gratidão.

Ao Dr. Frederico Inácio Costa de Oliveira, por ter sido muito mais que um avaliador da banca, por ter sido um amigo, que mesmo não sabendo me ajudou em muitos momentos difíceis nessa etapa, por todas as conversas jogadas foras, as referências e memes compartilhados, meu muito obrigado.

À Alexya Vitória Félix Carvalho por toda a sua paciência, atenção e ensinamentos nesse período, por todas as conversas voltando pra casa, por todos os risos compartilhados.

Ao Laboratório de Cultura de Tecidos, principalmente ao Gefferson, Karla, Roberta e Ewerton, por todos os papéis filme passados nos tubos de ensaios, etiquetas feitas, coleta de flores e desmonte do experimento.

Ao Anderson França, minha eterna gratidão, pelo carinho, paciência, compreensão, afeto, e diversos outros adjetivos que eu poderia citar aqui pra falar bem de ti, por ter segurado o choro comigo, por ter sido umas das pessoas que me ajudaram a não surtar nesse período, você foi um dos alicerces principais para essa conquista.

Aos formandos do 2014.1 do curso de Agronomia da Universidade Federal do Ceará desejo a todos sucesso em vossas caminhadas.

Ao grupo das Winx, principalmente ao Henrique Marinho, Paulo, Carlos, Rômulo, Rafael, Marcelo e Nathan por terem me aguentando falar de melão esses últimos tempos, obrigado por suportarem os meus surtos.

Aos amigos Ana Julia, Mirla Mesquita, Denysson, Leny Pinheiro, Marina Calisto, Gabriela Pinheiro, Ruan Lessa, Cecilio Leite, Ursula Prado, Edilaine Viana e Júlia Queiros por todo o apoio.

Ao Espalha nas pessoas, da Giane Pedroso, Honório Neto, Larissa Lopes, Neville Monteiro, e Natalia Dantas por esses anos dividindo choro, anseios, lutas, vitórias e derrotas eu sou eternamente grato a Deus por ter colocado pessoas tão especiais em minha vida como vocês.

À Julia Danielly e Gabriellen de Vasconcelos, por todas as conversas mais aleatórias que eu tive e pelas indicações de animes e series que um dia eu assistirei.

Ao Pedro V. Coelho, por ter lhe conhecido e ter me surpreendido sendo um amigo fiel, uma pessoa que me deu apoio e palavras de sabedorias em momentos que mesmo você não sabia que estava ajudando, pelas partidas de League of Legends, pelas conversas de horas ou de segundos e por ter visto coisas em mim que eu não enxergava, meu eterno obrigado.

À Larissa Nobre, Frederico Yan e Sammuell Lucas eu não tenho palavras pra agradecer vocês em minha vida, essa conquista tem um dedo de vocês nela, obrigado por ser meu trio desde o inicio do curso.

Ao Thiago, Jessyca, Vitor, Fabi e Rosa por terem sido meu semestre em outro período sou muito grato.

A minha irmã Joyce Maria, por ter sido a pessoa que todas as noites de minha vida me deu apoio, não me julgou, me deu o total suporte pra continuar, por me incentivar, por me cobrar. Eu amo você, meu obrigado.

Ao meu padrasto Francisco Wagner, por ser o pai que não conheci.

E por fim a minha mãe, Joelma Lopes, por ter me gerado, por ter acreditado em mim, tudo que eu fiz e faço é por você, esse é um pequeno agradecimento que tenho a você e espero um dia recompensar tudo que você faz por mim, eu te amo.

“Se te faz feliz ver o voo do outro, você
entendeu tudo.”

Autor Desconhecido.

RESUMO

O meloeiro (*Cucumis melo L.*) é uma olerícola de enorme importância econômica, além de ser bastante consumida mundialmente. A haploidização é o processo de produção de plantas haploides em uma única geração. Após a haploidização, o número de cromossomos das plantas haploides é duplicado (dihaploidização) para obter linhas homocigotas férteis completas. Essa técnica é aplicada em diversas culturas, contudo no meloeiro, a competência desse método se mostra abaixo da média, em destaque na parte de produção de plantas haploides. Uma alternativa para a produção de genótipos haploides no melão se dá pela cultura *in vitro* de anteras em curcubitáceas. Assim sendo, este trabalho, tem como finalidade alcançar a produção de plantas haploides de meloeiro por meio do cultivo *in vitro* de anteras. *Cantalupensis* e *inodorus* foram as variedades botânicas usadas. Os explantes obtidos foram botões de flores masculinas em estágio de pré-antese, de plantas mantidas em casa de vegetação. Os materiais selecionados foram cortados e inoculados em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio de cultivo. Na etapa de indução de calos, as anteras foram colocadas em meio de cultivo básico MS + 1,0 µM de BAP + 2,0 µM de 2,4D. O delineamento experimental aplicado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial de duas variedades botânicas, três pré-tratamentos, o controle (25°C no escuro, por 2 dias); o frio (4 ± 1°C, no escuro, durante 2 dias) e o outro à calor (32 ± 1 °C, no escuro, durante 2 dias). O período de permanência desse material em sala de crescimento foi um total de 28 dias, obtendo a formação de calos nessa primeira fase em todos os pré-tratamentos. Após esse período o material foi transferido para três meios de cultivo diferente MS + 3,0mg/L de BAP + 30g/L de Sacarose Meio 1); MS + 0,50mg/L de BAP + 60g/L de Meio 2) e por fim o último meio contendo MS + 0,047mg/L de ANA + 0,054mg/L de KIN + 90g/L de sacarose (meio 3). Decorrido duas semanas da transferência dos calos para os novos meios, observou-se que dentro de cada pré-tratamento o material diferenciou-se em relação à cor, tamanho e pontuações nos calos. No período de 63 dias após a inoculação *in vitro* das anteras, uma avaliação foi realizada mediante a nota atribuída a tais características e logo em seguida, realizou-se uma média observando que a variedade *cantalupensis*, obteve os melhores resultados para cor, tamanho e pontuações em dois meios diferentes.

Palavras-chave: *Cucumis melo L.* Androgênese. Dihaploides

ABSTRACT

The melon (*Cucumis melo L.*) is an olericola of enormous economic importance, besides being widely consumed worldwide. Haploidization is the process of producing haploid plants in a single generation. After haploidization, the number of chromosomes of haploid plants is doubled (dihaploidization) to obtain complete fertile homozygote lines. This technique is applied in several cultures, but in the melon tree, the competence of this method is below average, especially in the production of haploid plants. An alternative for the production of haploid species in melons is the in vitro culture of anthers in Curcubitáceas. Therefore, this work aims to achieve the production of melon haploid plants by means of in vitro cultivation of anthers. Cantalupensis and inodorus were the botanical varieties used. The explants obtained were buds of male flowers in the pre-antesis stage, of plants kept in a vegetation house. The selected materials, the anthers, were cut and inoculated in test tubes containing 10 mL of culture medium. In the callus induction step, the anthers were placed in basic culture medium MS + 1.0 μ M of BAP + 2.0 μ M of 2.4D. The experimental design applied was entirely randomized in factorial scheme of two botanical varieties, three pre-treatments, the control (in the dark, for 2 days); the cold (4 ± 1 oC, in the dark, for 2 days) and the other to heat (32 ± 1 oC, in the dark, for 2 days), The period of permanence of this material in the growth room was a total of 28 days, obtaining the formation of calluses in this first phase in all pre-treatments. After this period the material was transferred to three different culture media MS + 3.0mg/L of BAP + 30g/L of Sucrose Medium 1); MS + 0.50mg/L of BAP + 60g/L of Medium 2) and finally the last medium containing MS + 0.0047mg/L of ANA + 0.054mg/L of KIN + 90g/L of sucrose (Medium 3). Two weeks after the transfer of the calluses to the new media, it was observed that within each pre-treatment the material differed in terms of color, size and callus scores. Where 63 days after in vitro inoculation of the anthers, an evaluation was performed by means of the grade attributed to these characteristics and soon after, an average was performed observing that the variety cantalupensis, obtained the best results for color, size and scores in two different media. The pre-treatments, together with hormones from growth regulators were not able to produce the formation of aerial part in the melon culture.

Keywords: *Cucumis melo L.* Androgenesis. Dihaploides

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 – Tipos comerciais de melão (<i>Cucumis melo L.</i>)..... | 20 |
| Figura 2 – Plantio de melão em casa de vegetação..... | 24 |
| Figura 3 – Desinfestação e preparo dos explantes | 25 |
| Figura 4 – Variações nas cores observadas após as mudanças dos meios de maturação..... | 27 |
| Figura 5 – Variações nos tamanho após as mudanças dos meios de maturação..... | 28 |
| Figura 6 – Variações nas pontuações observadas após as mudanças dos meios de maturação..... | 28 |
| Figura 7- – Formação de calos na fase de indução variedade <i>Cantaloupensis</i> em: pré- tratamento..... | 29 |
| Figura 8- Formação de calos na fase de indução variedade <i>Inodorus</i> em: pré- tratamento..... | 29 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Dados de classificação das mudanças observadas nos explantes após a mudança para novos meios. Cor: notas atribuídas com intervalos de 1 a 5; tamanho: notas atribuídas com intervalo de 1 a 3; pontuações: notas atribuídas com intervalos de 1 a 4..... | 26 |
| Tabela 2 - Porcentagem de formação de calos em duas variedades botânicas de meloeiro (<i>Cucumis melo</i> L.) submetidas a dois pré-tratamentos em comparação com o controle..... | 29 |
| Tabela 3 - Médias totais após avaliação dos pré-tratamentos: tratamento 1: controle; tratamento 2: frio – 4°C durante dois dias e tratamento 3: calor 32° C durante dois dias..... | 31 |
| Tabela 4 - Média das cores dos calos submetidas ao tratamento 1 – controle, tratamento 2 frio e tratamento 3 – calor, aos meios de cultura meios de cultura..... | 32 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------|---|
| 2,4-D | Ácido 2,4-diclorofenoxiacético |
| ANA | Ácido 1-naftalenacético |
| BAP | 6-benzilaminopurina |
| cv. | Cultivar |
| FAO | Faostat –Statistics Database |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| KIN | Cinetina |
| M1 | Meio de cultivo 1 |
| M2 | Meio de cultivo 2 |
| M3 | Meio de cultivo 3 |
| MS | Meio Murashige & Skoog (1962) |
| T1 | Tratamento 1 |
| T2 | Tratamento 2 |
| T3 | Tratamento 3 |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 15 |
| 2 OBJETIVOS | 17 |
| 2.1 Objetivo geral..... | 17 |
| 2.1 Objetivos específicos | 17 |
| 3 REFERENCIAL TEÓRICO..... | 18 |
| 3.1 O meloeiro | 18 |
| <i>3.1.1 Aspectos botânicos.....</i> | <i>18</i> |
| <i>3.1.2 Aspectos econômicos.....</i> | <i>19</i> |
| 3.2 Melhoramento genético..... | 20 |
| 3.3 Técnica de dihaploidização | 21 |
| 3.4 Cultura de tecidos vegetais | 22 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS..... | 23 |
| 4.1 Local, material vegetal e condições de cultivo..... | 23 |
| <i>4.1.1 Fase de indução de calos.....</i> | <i>25</i> |
| <i>4.1.2 Fase de maturação dos calos.....</i> | <i>25</i> |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 28 |
| 5.1 Fase de indução de calos | 29 |
| 5.2 Fase de maturação de calos..... | 31 |
| 6. CONCLUSÃO..... | 35 |
| REFERÊNCIAS..... | 36 |

1 INTRODUÇÃO

O meloeiro (*Cucumis melo L.*), pertencente à família das Curcubitáceas, é uma olerícola muito apreciada e de grande importância no mundo. Atualmente é uma das frutas frescas mais exportadas pelo Brasil (NASCIMENTO NETO et al., 2012). Há relatos que apontam para o continente africano, onde comumente são encontrados melões silvestres nas regiões da África Oriental e Ocidental. (PITRAT 2013).

O valor econômico do melão no Brasil vem crescendo, em virtude principalmente das exportações (SANTOS et al., 2004). No decorrer da década passada a cultura do melão firmou-se no semiárido nordestino como um novo investimento em curto tempo, para vendas em mercados nacionais e internacionais (SOUZA 2006)

Os melões são agrupados em dois grupos distintos: *inodorus* e *cantalupensis*. Os melões pertencentes ao grupo *inodorus* qualificam-se por exibirem frutos sem aroma, possuir a casca lisa ou levemente enrugada, com uma coloração amarela ou verde escura, e polpa de tonalidade que vai desde o branco até o verde claro. Destacam-se nesse grupo os melões amarelos, Pele-de-Sapo e Orange Flesh (White Honey Dew) (COSTA et al., 2000). Já os pertencentes ao grupo dos *cantalupensis* são os mais desfrutados no mercado externo, apresentam à casca recoberta por redilhamentos corticoso, variando a cor da casca entre o amarelo e o esverdeado destacando os tipos: Cantaloupe, Gália e Charentais (FILGUEIRAS et al., 2000; SILVA et al., 2002).

No cultivo do meloeiro são empregadas basicamente sementes de cultivares comerciais e híbridos, geralmente importadas, tendo em vista o mercado para exportação e procurando atender a demanda da população brasileira que exige frutos de boa qualidade (LOPES et al., 1999).

Cultivares comerciais de meloeiro são, em sua maioria, híbridos F₁. Para geração desses híbridos F₁, os parentais devem possuir alto grau de homozigose (linhagens puras) (YASHIRO et al., 2002). Segundo este autor, empregando técnicas padronizadas pelo melhoramento de plantas, como a autopolinização ou retrocruzamentos, essas etapas podem durar mais de sete anos (YASHIRO et al., 2002). Neste âmbito, a produção de plantas haploides se destaca como uma importante etapa no estabelecimento de programas de melhoramento genético vegetal, contribuindo na

diminuição do tempo, mão de obra e de recursos financeiros para o alcance de uma nova cultivar (TOURAEV et al., 2001).

As técnicas mais utilizadas para obtenção de haploides em cucurbitáceas são: polinização com pólen irradiado (SAUTON; DUMAS VAULX, 1987; BAKTEMUR et al., 2014; KOŠMRLJ; KASTELEC; BOHANEK, 2014; GALAZKA; SLOMNICKA, 2015; KOUAKOU et al., 2015); cultura *in vitro* de óvulo e ovário (MALIK et al., 2011; GODBOLE; MURTHY, 2012; KOLI; MURTHY, 2013; LI et al., 2013; PLAPUNG et al., 2014), e cultura *in vitro* de grão de pólen e da antera (SUPRUNOVA; SHMYKOVA, 2008; HAMIDVAND et al., 2013; USMAN et al., 2015; ABDOLLAHI et al., 2016), e cruzamento interespecífico (DUMAS, 1979; DEVAUX; PICKERING, 2005).

Dos métodos anteriormente citados o mais frequente para produção de haploides é por meio da cultura de anteras, também chamada de androgênese (PETERS et al., 1999), contudo, ainda existem poucos estudos relatados na cultura do meloeiro com relação à produção de calos por meio de androgênese *in vitro* (DRYANOVSKA; ILIEVA 1983; DRYANOVSKA, 1985).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Obtenção de plantas haploides a partir do cultivo *in vitro* de anteras de duas variedades botânicas de meloeiro: *C. melo var. inodorus* e *C. melo var. cantalupensis*.

2.1 Objetivos específicos

1. Aplicar pré-tratamentos de controle 24°C; frio a 4°C e calor a 32°C no cultivo *in vitro* de anteras de meloeiro das variedades *inodorus* e *cantalupensis*;
2. Indução *in vitro* de calos em anteras, aos 28 dias;
3. Maturação dos calos obtidos em diferentes meios de cultivo.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 O meloeiro

3.1.1 Aspectos botânicos

A família Cucurbitaceae engloba em torno de 130 gêneros e 900 espécies (NEE, 2004), além de abranger um grande número de espécies de grande valor econômico, como melão (*C. melo* L.), pepino (*Cucumis sativus* var. *sativus* L.) abóbora (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Poir.), abobrinha (*Cucurbita pepo* L.), melancia (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai), moranga (*Cucurbita maxima* Duch. ex Lam.) dentre outras classes cultivadas em todo o mundo (DONG et al., 2016).

O meloeiro (*C. melo* L.) é uma planta que apresenta seu centro de origem próximo ao continente africano, se caracteriza pela grande variedade genética e adaptabilidade a diferentes ambientes, sendo cultivada em inúmeras áreas de clima tropical ou subtropical. (COSTA, 2008) Há documentos do cultivo de melões em pinturas egípcias datadas de 2500 a.C., chegando a ser apontado no antigo testamento da bíblia como um dos alimentos consumido pelo povo judaico durante a travessia do deserto (CEAGESP, 2019).

No Brasil, a entrada da cultura foi realizada pelos escravos africanos e imigrantes europeus e o Estado do Rio Grande do Sul foi, provavelmente, o seu primeiro ponto de cultivo no país. (PRIORI et al., 2010).

O meloeiro é uma planta anual, herbácea, de hastes trepadoras e folhas pecioladas grandes e aveludadas. (GAYET, 2003) O fruto é consumido na forma *in natura*, como componentes de saladas de frutas ou de hortaliças, e também como suco. Quanto a sua composição química é rica em fibras, betacaroteno (Provitamina A), vitaminas C e do complexo B, apontando essências calmantes, refrescantes, estimulantes, alcalinizantes, mineralizantes, oxidantes, diuréticas e laxativas (GOMES, 2007; SEAGRI, 2010).

De acordo com Robinson e Decker-Walters (1997), os melões plantados relacionam-se a dois grupos botânicos:

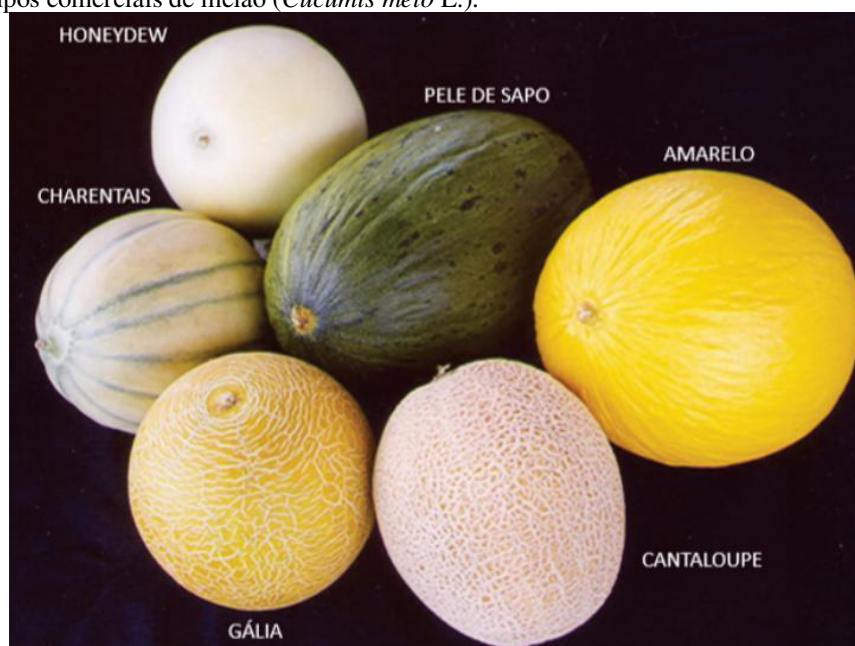
C. melo var. *inodorus* (inodoros e não climatéricos): o fruto exhibe casca lisa ou levemente enrugada, coloração amarela, branca ou verde-escura. Por ser espessa e firme, a casca dessa variedade possui razoável firmeza à pressão e redução de água,

atribuindo uma longa vida útil pós-colheita. A polpa apresenta alta quantidade de açúcares, pode possuir uma cor que varia entre o branco e o verde-claro e não apresenta aroma. Os pesos médios dos frutos variam de 1 kg a 2 kg (BRASIL, 2003; MENEZES et al., 2000).

C. melo var. *cantaloupensis* (aromáticos e climatéricos): frutos muito perfumados, mais adocicado que os inodoros, contudo de pouca durabilidade pós-colheita; dispõem de alta abundância de coloração da polpa. Denotam frutos redondos, um pouco achatados, com polpa de espessura e cor variável. O peso médio dos frutos varia de 1 kg a 1,5 kg (BRASIL, 2003; COSTA; PINTO, 1977; MENEZES et al., 2000).

Os tipos mais comercializados no Brasil são: Amarelo, Pele de Sapo e Honey Dew (pertencentes à variedade *inodorus*); Cantaloupe e Gália (pertencentes à variedade *reticulatus*) e Charentais (pertencentes à variedade *cantalupensis*) (Figura 1) (OLIVEIRA, 2018).

Figura 1 - Tipos comerciais de melão (*Cucumis melo* L.).



Fonte: ARAGÃO (2011).

3.1.2 Aspectos econômicos

Dados apresentados pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) apontam para uma produção total de melão, em 2017, que ultrapassou os 30 milhões de toneladas em mais de 1,22 milhões de hectares colhidos ao redor do mundo. China, Turquia, Irã, Egito e Índia, representaram os

maiores produtores, arcando com mais de 70% do total produzido. A contribuição do Brasil se deu com menos de 2%, resultando na 11ª posição, registrando um número de 540 mil toneladas, cerca de 23 mil hectares colhidos (FAO, 2019).

De todo o território brasileiro a região Nordeste em 2017 se destacou por 95% da produção total, principalmente os estados do Rio Grande do Norte e Ceará, sendo as regiões de maior concentração do cultivo desta hortaliça (IBGE 2019). A associação de elevadas temperaturas, forte luminosidade e menor teor de umidade, peculiaridades do clima nordestino, tem contribuído de forma significativa para sua produção na região (ALVES et al., 2018).

O total produzido foi destinado ao mercado externo, movimentando valores superiores a US\$ 130 milhões. Os principais destinos do fruto foram Holanda (73,1 mil toneladas/US\$ 49,37 milhões), Espanha (55,1 mil toneladas/US\$ 37,10 milhões) e Reino Unido (48,24 mil toneladas/US\$ 35,33 milhões). Somente no primeiro trimestre de 2019, as exportações tiveram aumento de mais de 40% (23,8 mil toneladas), gerando um incremento de US\$ 11,82 milhões em relação ao mesmo período de 2018 (MDIC, 2019).

3.2 Melhoramento genético

O melhoramento genético de plantas tem como escopo o aumento da produção agrícola para suprir as necessidades de uma população mundial que está em constante crescimento. A busca de pesquisadores por novas combinações genéticas, visando selecionar plantas com características superiores para atender as demandas dos agricultores e consumidores, é constante (GERMANÀ, 2011).

Métodos de hibridização, fundamentados em endogamia ou linhagens parentais puras, objetivam o desenvolvimento de híbridos de interesse. Por meio de desenvolvimento de híbridos, a produtividade das culturas pode ser significativamente aumentada (DUNWELL, 2010; GERMANÀ, 2011; FORSTER et al., 2007). Cultivares comerciais de melão são predominantemente, híbridos F₁. Para que a obtenção desses genótipos tenha êxito, os parentais devem ter alto grau de homozigose (YASHIRO et al., 2002)

Em um programa de melhoramento convencional, a obtenção de novas cultivares superiores com as características agrícolas desejáveis, especialmente resistência a doenças e pragas e vigor em condições de estresse, requer anos de pesquisa

(GÉMES-JUHÁSZ et al. 2002; DATTA 2005); espécies que apresentam polinização aberta, como o meloeiro, o uso de técnicas convencionais de melhoramento de plantas, como a autopolinização ou retrocruzamentos, podem durar mais de sete anos (YASHIRO et al., 2002), e, para outros autores, podem ser necessários de 10 a 12 anos para se obter linhas puras, em áreas onde o ciclo da cultura acontece apenas uma vez ao ano. (BAKTEMUR; TAŞKIN; BÜYÜKALACA, 2013).

3.3 Técnica de dihaploidização

A dihaploidia foi alcançada pela técnica de pólen irradiado em abobrinha (KURTAR et al. 2002; BERBER 2009; BAKTEMUR et al. 2014), abóbora (KURTAR et al. 2009), e moranga (KURTAR e BALKAYA, 2010).

A haploidização é o processo de produção de plantas haploides em uma única geração. Após a haploidização, o número de cromossomos das plantas haploides é duplicado para obter linhas homozigotas. Atualmente, essas linhas são usadas em programas de melhoramento genético (KURTAR e BALKAYA, 2010).

A fim de obter um di-haploide, dois passos principais devem ser considerados: a indução do desenvolvimento de haploides (monoploides) e a duplicação dos cromossomos desses indivíduos haploides (SEGUÍ-SIMARRO; NUEZ, 2008)

As técnicas mais utilizadas para obtenção de haploides em cucurbitáceas são: polinização com pólen irradiado (SAUTON; DUMAS VAULX, 1987; BAKTEMUR et al., 2014; KOŠMRLJ; KASTELEC; BOHANEC, 2014; GALAZKA; SLOMNICKA, 2015; KOUAKOU et al., 2015); cultura *in vitro* de óvulo e ovário (MALIK et al., 2011; GODBOLE; MURTHY, 2012; KOLI; MURTHY, 2013; LI et al., 2013; PLAPUNG et al., 2014), e cultura *in vitro* de grão de pólen e da antera (SUPRUNOVA; SHMYKOVA, 2008; HAMIDVAND et al., 2013; USMAN et al., 2015; ABDOLLAHI et al., 2016), e cruzamento interespecífico (DUMAS,1979; DEVAUX; PICKERING, 2005).

O procedimento mais frequente para o alcance de plantas haploides em cucurbitáceas é por meio da polinização com pólen irradiado, induzindo o desenvolvimento partenogênético de embriões haploides (GAŁAZKA; NIEMIROWICZ-SZCZYTT, 2013). Em meloeiro, o primeiro caso de sucesso ocorreu em 1987, resumindo-se na germinação do pólen irradiado no estigma, no seu

desenvolvimento dentro do estilo e na chegada ao saco embrionário, contudo ocorreu a inviabilidade da fertilização do ovulo e os núcleos polares (KURTAR, 2009; KURTAR; BALKAYA, 2010; SAUTON; DUMAS DE VAULX, 1987).

3.4 Cultura de tecidos vegetais

A cultura de tecidos vegetais envolve várias técnicas sendo uma delas a micropropagação que visa obter uma nova planta idêntica à original, ou seja, efetuar uma clonagem vegetal que é estabelecida como uma propagação assexuada de células ou organismos de modo a obter novo indivíduo, conservando o genótipo idêntico àquele da planta mãe (TORRES et al., 2000).

A cultura de tecidos vegetais é iniciada de um explante (que é qualquer parte de tecido ou de um órgão vegetal usado para iniciar uma cultura *in vitro*). Podendo ser um fragmento de folha, de raiz, de caule ou de qualquer tecido que responda às condições de indução do meio de cultivo, com vistas à reestruturação vegetal *in vitro* (TORRES et al., 2000).

Encontram-se três causas que afetam a regeneração da planta *in vitro*: o genótipo (qual espécie, cultivar ou variedade que está sendo utilizada), a fonte de explantes (folha, raiz, caule, meristema, etc) e a condição da cultura (meio de cultivo, luz, temperatura, fotoperíodo, recipientes etc). O êxito do princípio e da regeneração da cultura *in vitro* provém da escolha exata de todos esses fatores (CALDAS et. 1998).

O progresso de técnicas *in vitro*, para a elaboração de haploide em cucurbitáceas, configura um avanço relativamente recente, nos campos da biotecnologia e reprodução de plantas (DONG et al., 2016), pois em literatura é possível encontrar apenas dois estudos executados na cultura do meloeiro usando a cultura *in vitro* de anteras; a conclusão se limitou apenas a formação de calos; contudo, não consta nos trabalhos existentes o método usado para a fixação *in vitro* do explante (DRYANOVSKA; ILIEVA 1983; DRYANOVSKA, 1985).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local, material vegetal e condições de cultivo

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Agroindústria Tropical (CNPAT), em Fortaleza, Ceará, no período de agosto a novembro de 2019.

Sementes de duas variedades botânicas de meloeiro (*C. m. var. inodorus*; *C. m. var. cantalupensis*), obtidas de plantas saudias, foram semeadas em bandejas de 200 células, contendo substrato comercial - Hortaliça CA® e fibra de coco, na proporção de 1:1, permanecendo neste recipiente até o décimo segundo dia do mês de início do experimento, quando ocorreu a transferência para vasos de cinco litros contendo areia. (Figura 2).

O espaçamento aplicado em casa de vegetação foi de 0,4m entre vasos e 0,8m entre linhas. O tutoramento das plantas foi dirigido por uso de fitilhos. As coletas das flores masculinas em estágio de pré-antese foram realizadas duas semanas após o início do florescimento das plantas, sendo realizada no período entre 08h00 min – 10:00 min).

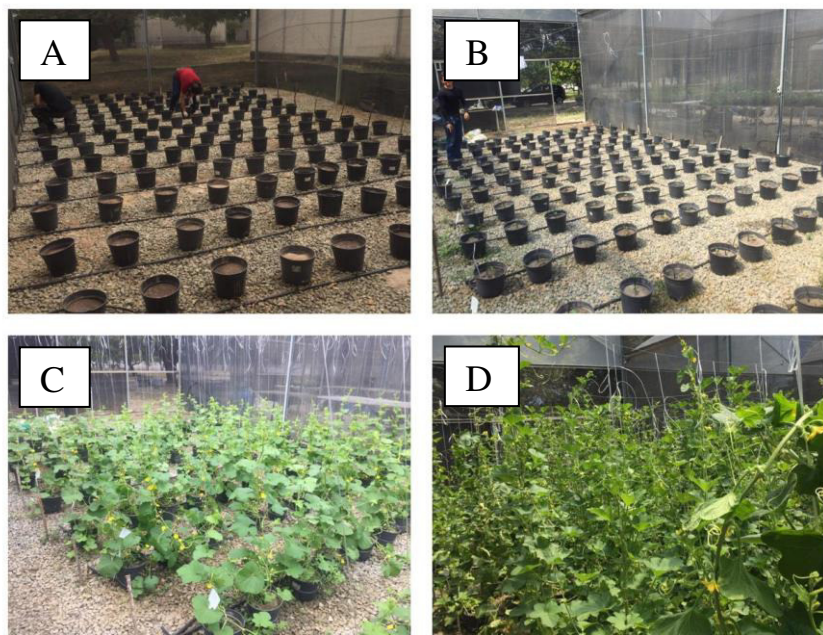
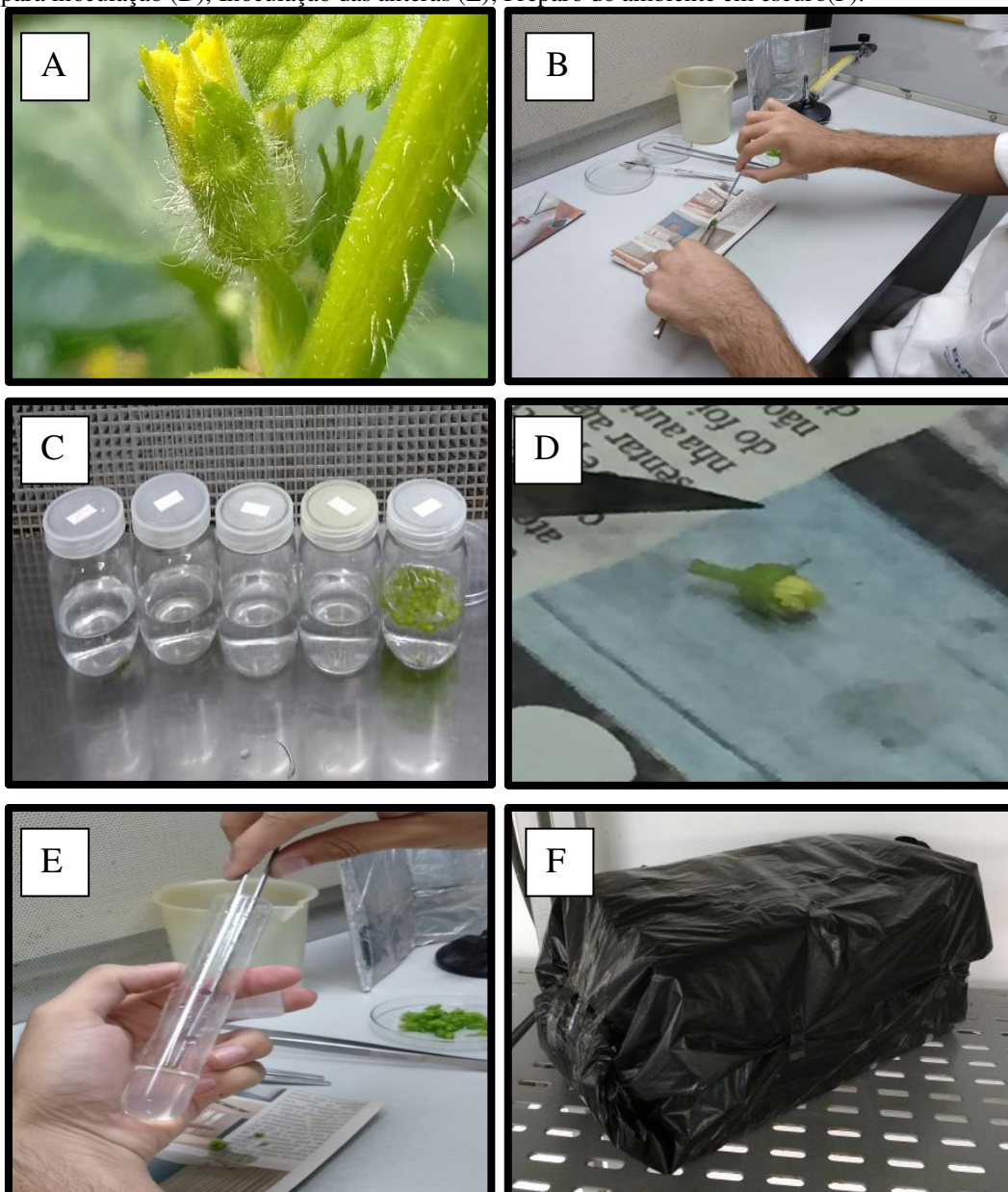


Figura 2 Instalação do experimento (A); Transplântio das plantas de melão após 12 dias da semeadura (B); Plantas de meloeiro (*C. melo L*) após 22 dias com o tutoramento por fitilhos (C); Plantas no final de seu ciclo (D) Fonte: Elaborada pelo autor.

A desinfestação dos botões florais (Figura 3) ocorreu em capela de fluxo, sendo feita em solução de álcool 70% por 1 minuto, a seguir em solução de hipoclorito de sódio (cloro ativo 0,1%) contendo duas gotas de Tween 20 por 100 mL de solução, por 7 minutos e 30 segundos, e, por fim, enxaguados três vezes com água destilada autoclavada, em 1 minuto cada. Logo depois as flores foram abertas e as anteras excisadas com o auxílio de pinças e bisturis, partidas ao meio e inoculadas em tubos de ensaio com 150 x 25 mm, contendo 10 mL de meio de cultivo, sendo colocada uma antera por tubo.

Figura 3 Coleta dos botões florais masculinos das variedades *cantalupensis* e *inodorus* em estágio de pré-antese (A); Capela de Fluxo Laminar (B); Desinfestação dos botões florais (C); Excisão do botão floral para inoculação (D); Inoculação das anteras (E); Preparo do ambiente em escuro(F).



4.1.1 Fase de indução de calos

O meio de cultivo básico usado para indução de calos foi o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), acrescido com 1,0 μM de BAP + 2,0 μM de 2,4D, de acordo com o protocolo de Kurtar et al., (2016). Antes da autoclavagem, o pH do meio de cultivo foi acertado para 5,8 e autoclavagem ocorreu a ação a 121°C, por 15 minutos.

Após a inoculação das anteras *in vitro*, estas foram divididas em grupos: o controle, a 25°C; o pré-tratamento de calor que foi mantido em estufa B.O.D, a 32°C também no escuro (KURTAR 2016); e em geladeira, representando o pré tratamento frio a uma temperatura de 4°C (KURTAR 2016). Todos os tratamentos passaram dois dias no escuro. Levando em consideração que em cada grupo as inoculações ocorreram em dias diferentes da mesma semana, ambos os fatores (controle, calor e frio) contribuindo para a indução de calos. Após o período citado, todos os explantes foram transferidos para a sala de crescimento com um período de luz de 16 horas a uma intensidade luminosa de 30 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e temperatura de 25°C.

Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x3, sendo duas variedades botânicas e três pré-tratamentos (controle, calor e frio) com 80 repetições, sendo cada repetição foi composta por um tubo contendo uma antera. Os explantes foram avaliados quanto à contaminação e formação de calos.

4.1.2 Fase de maturação dos calos

Transcorrido 28 dias após a fase de calogêneses, os calos foram transferidos para três meios de cultivo: MS + 3,0 mg/L (0,68 μM) de BAP + 30,0 g/L de sacarose. (Assis et al. 2018 – Meio 1); MS + 2,22 μM (0,50 mg/L) de BAP + 60 g/L de sacarose (Amirian et al. 2019 – Meio 2) e por fim o último meio contendo MS + 0,25 μM (0,047 mg/L) de ANA + 0,25 μM (0,054 mg/L) de KIN + 90 g/L de sacarose. (Kumar et al. 2003 – Meio 3)

Os tratamentos foram mantidos em sala de crescimento com as mesmas condições de fotoperíodo, intensidade luminosa e temperatura citadas na fase de indução de calos.

Duas semanas após a transferência do explantes para os novos meios de cultivo observou-se que ocorreram mudanças na cor, no tamanho e ocorrência de pontuações nos calos onde se realizou uma classificação mediante aos fatores observados (Tabela1).

Tabela 1 – Dados de classificação das mudanças observadas nos explantes após a mudança para novos meios. Cor: notas atribuídas com intervalos de 1 a 5; Tamanho: notas atribuídas com intervalo de 1 a 3; Pontuações: notas atribuídas com intervalos de 1 a 4.

| COR | TAMANHO | PONTUAÇÕES |
|--|----------------|-------------------|
| 1 - Bege | | 1- Nenhuma |
| 2 – Metades Beges com Metade Verde Claro | 1- Pequeno | 2 - Poucas |
| 3 - Verdes Claro | 2 - Médio | 3 - Intermediária |
| 4 – Metades Verde Claro com Verde Escuro | 3- Grande | 4 – Muitas |
| 5 - Verde Escuro | | |

A diferença entre as cores e pontuações (Figura 4 e Figura 6) foi estabelecida após comparação entre todas as amostras onde o padrão da tabela tornou-se o definido. Para o tamanho (figura 5) três tamanhos diferentes para calos foram estabelecidos, a saber: pequeno (tamanho do calo \leq duas vezes o tamanho da antera), médio (duas vezes o tamanho da antera $< tc \leq$ seis vezes o tamanho da antera), grande ($tc >$ seis vezes o tamanho da antera).

Figura 4 – Variações nas cores observadas após as mudanças dos meios de maturação: Bege (A); Metade Bege com metade Verde Claro 50% (B); Verde Claro (C); Metade Verde Claro com metade Verde Escuro (D); Verde Escuro (E). Fonte: Elaborado pelo autor.

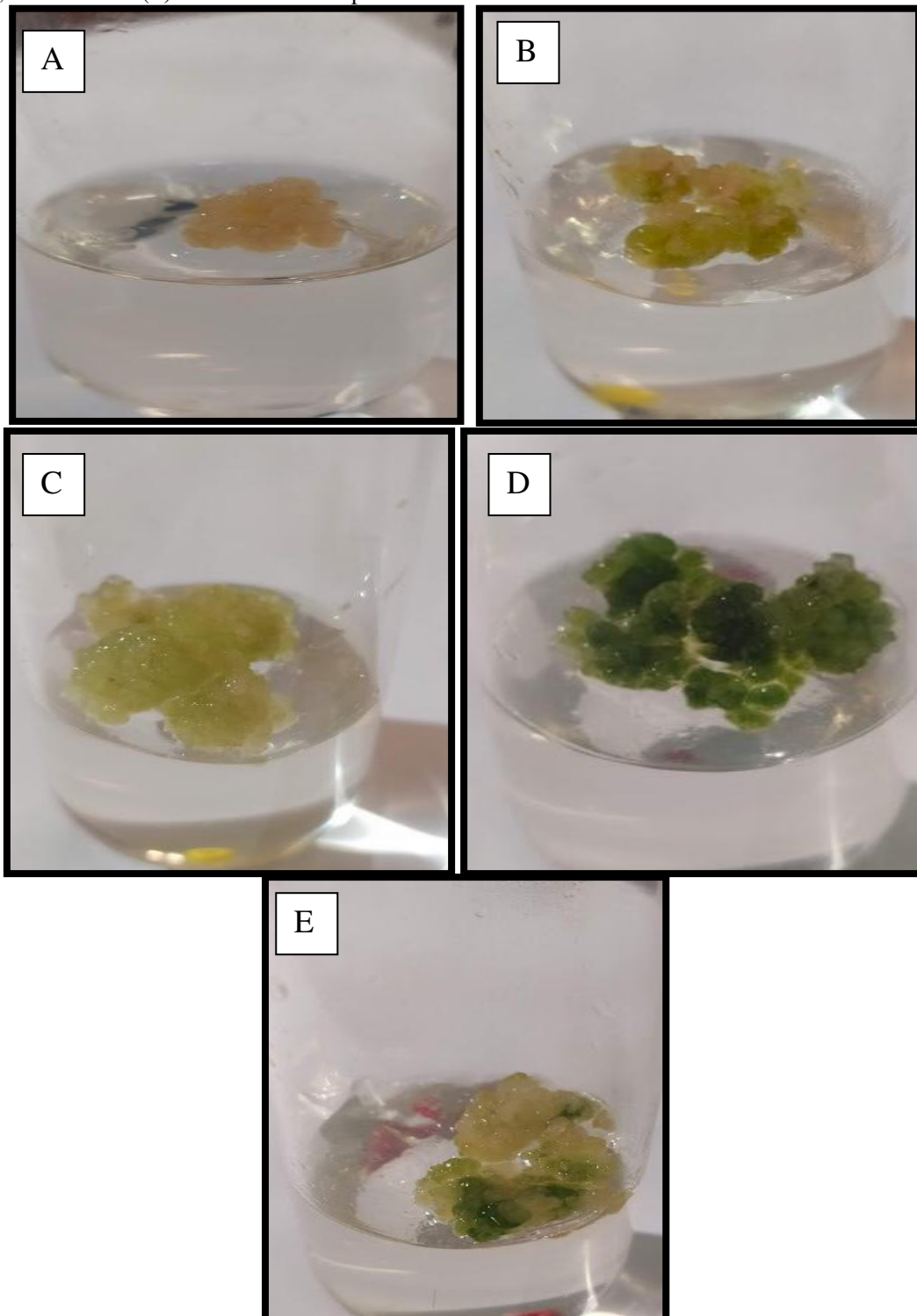


Figura 5 – Variações nos tamanhos observados após as mudanças dos meios de maturação: A - pequeno (tamanho do calo \leq duas vezes o tamanho da antera), B - médio (duas vezes o tamanho da antera $<tc \leq$ seis vezes o tamanho da antera), C – grande ($tc >$ seis vezes o tamanho da antera). Fonte: Elaborado pelo autor.

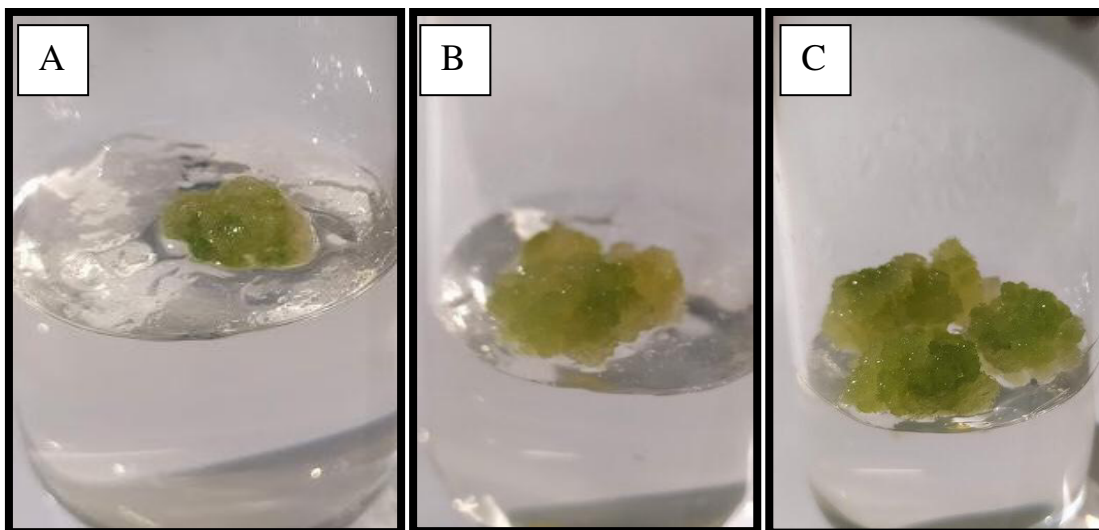
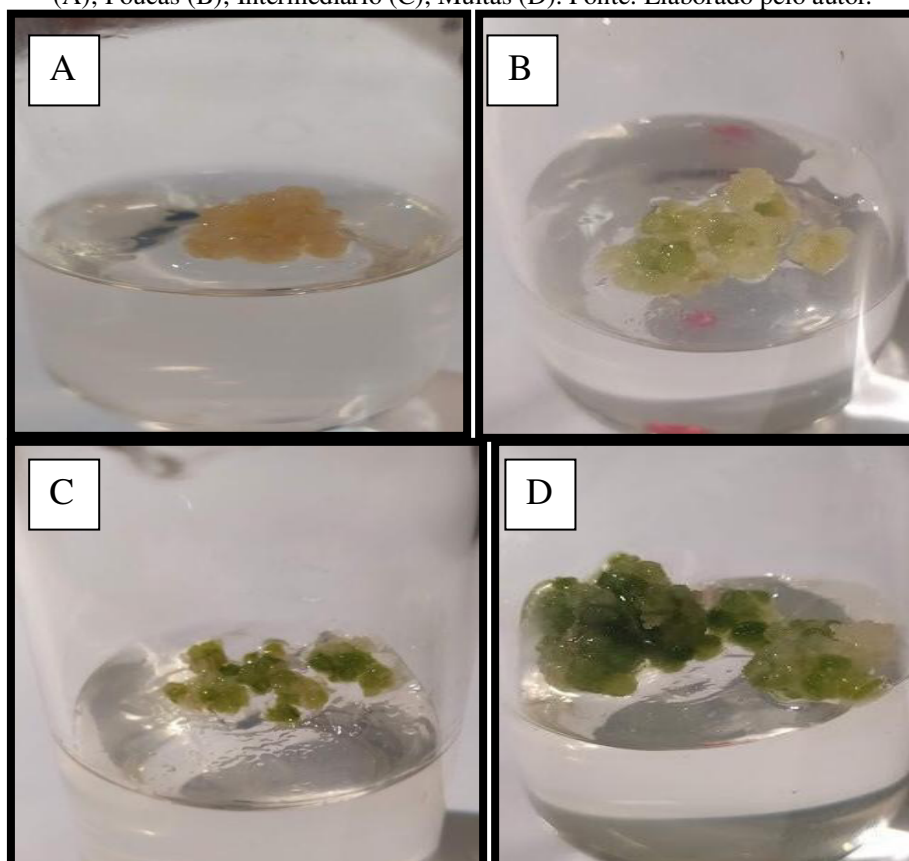


Figura 6 - Variações nas pontuações observadas após as mudanças dos meios de maturação: Nenhuma (A); Poucas (B); Intermediário (C); Muitas (D). Fonte: Elaborado pelo autor.



5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Fase de indução de calos

Notou-se o desenvolvimento de calos no meio cultivo MS + 1,0 μ M de BAP + 2,0 μ M de 2,4D, (Figura 7 e 8) de acordo com o protocolo de Kurtar et al., (2016), demonstrando que em todos os pré-tratamento não há diferenciação estatística (Tabela 2) quanto a formação de calos presente e que ambas as variedades botânicas usadas para a formação de calos, mostram capacidade e competência.

Figura 7 – Formação de calos na fase de indução variedade *Cantalupensis* em: pré-tratamento de Controle 25°C (A); pré-tratamento de frio 4°C (B); pré-tratamento de calor 32°C (C). Fonte: Elaborado pelo autor.

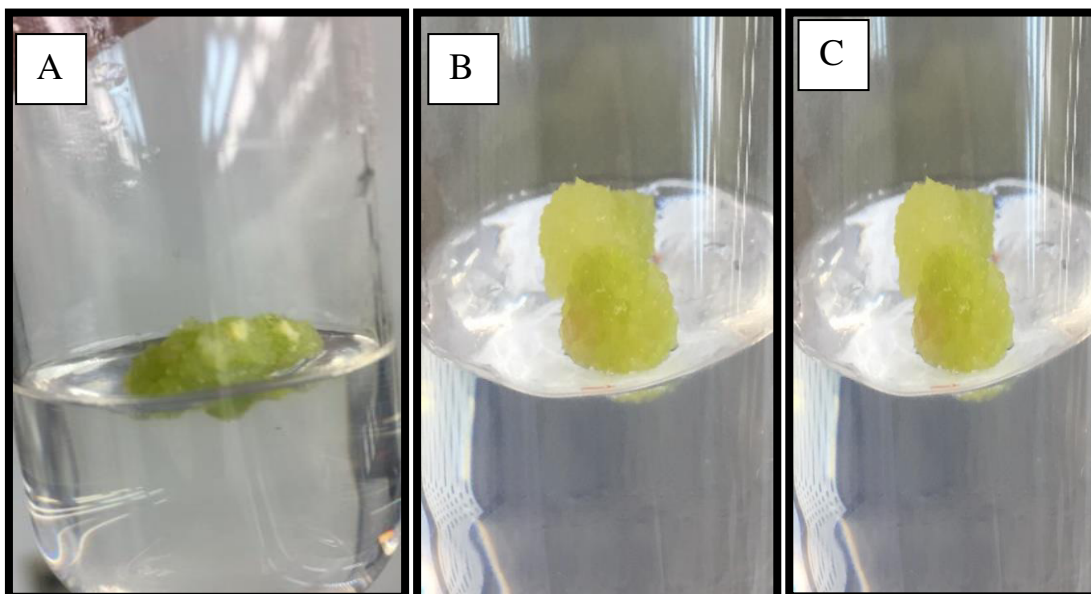


Figura 8 – Formação de calos na fase de indução variedade *Inodorus* em: pré-tratamento de Controle (A); pré-tratamento de frio (B); pré-tratamento de calor (C). Fonte: Elaborado pelo autor.

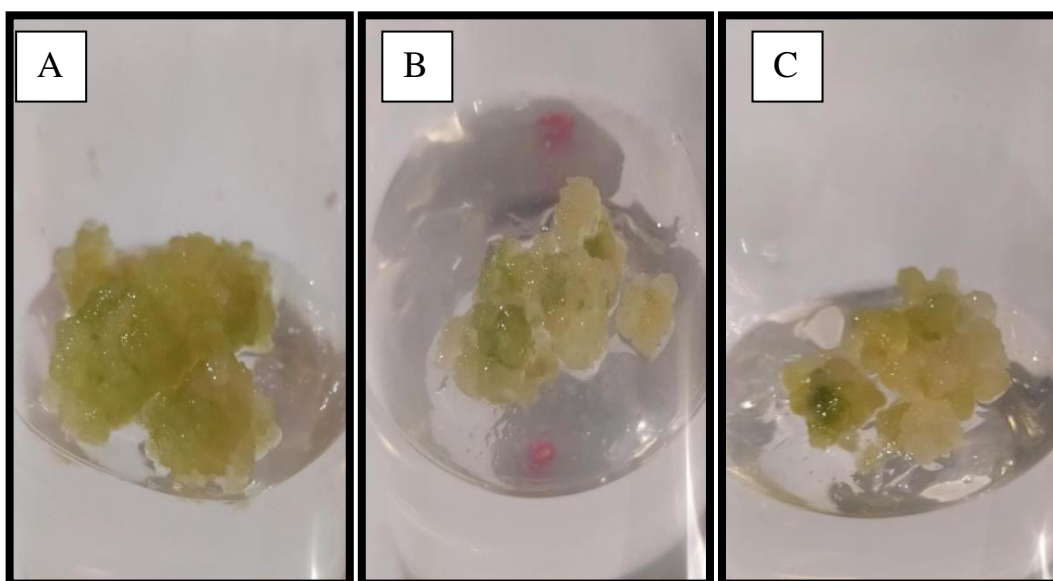


Tabela 2. Porcentagem de formação de calos em duas variedades botânicas de meloeiro (*Cucumis melo* L.), submetidas a dois pré-tratamentos em comparação com o controle aos 28 dias de cultivo *in antera*.

| Variáveis | Calos |
|----------------------|----------------------|
| | Formação (%) |
| Variedade botânica | |
| <i>Cantalupensis</i> | 98,33 a ¹ |
| <i>Inodorus</i> | 98,75 a |
| Pré-tratamento | |
| Frio | 97,25 a |
| Quente | 99,38 a |
| Controle | 98,75 a |

^{1/} Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Alguns fatores são essenciais para a indução de calos, como a interação entre os reguladores de crescimento no meio de cultivo. 2,4-D é a auxina mais usada para os processos de calogênese, o uso desse regulador de crescimento justifica-se por ser responsável pelo incentivo a divisão celular e o crescimento da célula. (GEORGE, 1996).

Dessa maneira os resultados obtidos não se diferenciaram do protocolo de Kurtar et al. (2016) que obteve resultados positivos, onde o meio utilizado em seu trabalho também foi o meio MS acrescido apenas da auxina usada para suplementar o meio. Os resultados positivos obtidos por Kurtar et al. (2016) para a calogênese se deu apenas com o meio MS suplementando com apenas 2,4 D. Já Kouakou et al. (2015) constatou que a indução de calos na cucurbitácea *L. siceraria* foi melhorada com a adição dos aminoácidos: arginina, glutamina, glicina, e da citocinina BAP ao meio de indução. Abdollahi et al. (2015) relataram o efeito da combinação do 2,4-D com BAP em anteras da cultivar Charleston Gray de melancia, sendo o mesmo positivo com respostas de 75% a 88% de indução de calos.

Outro fator a se levar em consideração na primeira parte do experimento foi o acréscimo de 1,0 µM de BAP que é uma citocinina, um fitoregulador vegetal responsável pela divisão celular. Acredita-se que esta substância é produzida nos meristemas das raízes, folhas e frutos jovens, além de sementes em desenvolvimento, alguns trabalhos como o. Abdollahi et al. (2015) que ocorreu a descreve a combinação de 2,4-D com BAP em anteras da cultivar Charleston Gray de melancia, ocorrendo efeitos positivos na formação na indução de calos, reforçando mais uma vez a não diferenciação da metodologia executada neste experimento.

A exposição a diferenças temperaturas para a indução de calos em um ambiente escuro é citado em diferentes trabalhos. Seguindo o protocolo de Kumar et al.(2003) que testaram duas cultivares de pepinos em dois pré tratamentos (frio e calor) concluíram que o choque térmico a frio em um período de dois dias mostrou-se positivo, com formação de calos em 47,76% dos explantes. Já o calor apenas 33,88%, contudo, caso o período a exposição a baixa temperaturas for elevado afeta o potencial embriogênico das anteras.

Para o presente estudo as duas cultivares de meloeiro mostraram-se positivas a ambos os choques térmico.

Kurtar et al. (2016) incubaram as anteras das abóboras (*Cucurbita maxima* Duch e *Cucurbita moschata* Duch) a 32°C ao longo de 1 semana no escuro, observando-se o desenvolvimento de calos para as anteras sujeitas a este tratamento já na fase de indução de calos. Contudo, neste trabalho, o período em escuro foi diminuído para dois dias tendo resultados positivos, evidenciando-se que um tempo menor usado na fase de indução de calos também é efetivo.

O sucesso da formação de calos depende de vários fatores, como a combinação de genótipos, condições de crescimento, vigor e condição fisiológica das plantas doadoras (KUMAR et al. 2003; QI et al. 2011; CHENET al. 2013), pré-tratamentos de gemas ou anteras, (KOLEVA-GUEDEVA et al. 2007), condições de incubação (BAJAJ 1990) e composições de meio de cultivo (AVED et al. 2010; PENCÍK et al. 2015). Associado a isso, a preservação dos explantes no escuro na fase inicial, aumentou a produção de calos (JARAMILLO; SUMMERS,1991).

5.2 Fase de maturação de calos

Após a transferência dos calos do meio de cultivo de indução para os três meios de maturação MS + 3,0 mg/L (0,68 µM) de BAP + 30,0 g/L de sacarose. (Assis et al. 2018 – Meio 1) ; MS + 2,22 µM (0,50 mg/L) de BAP + 60 g/L de sacarose (Amirian et al. 2019 – Meio 2) e MS + 0,0047mg/L de ANA + 0,054mg/L de KIN + 90g/L de sacarose (Kumar et al. 2003 – Meio 3), foi possível observar a diferenciação entre a cor, tamanho e formação de pontuações entre os calos nas duas variedades usadas em relação aos três pré-tratamentos aplicados no experimento. Após essa diferenciação os explantes foram avaliados de acordo com a tabela 1, onde ocorreu uma contagem dos

explantes viáveis, ou seja, aqueles que não apresentaram nenhum tipo de contaminação, sendo posteriormente, obtida uma média para cada tratamento (Tabela 3).

Tabela 3 - Médias totais após avaliação dos Pré-tratamentos: tratamento 1 (T1): controle; Tratamento 2 (T2): Frio – 4°C durante dois dias e Tratamento 3(T3) : Calor 32°C durante dois dias. Meios de cultivo: M1: (Assis et al. 2018) MS + 3,0 mg/L de BAP (30 g/L de sacarose); M2: (Amirian et al. 2019): MS + 0,5 mg/L de BAP (60g/L de sacarose) e M3: (Kumar et al. 2003): MS + 0,054 mg/L de KIN + 0,047 mg/L de ANA (90g/L de sacarose).

| Cultivar de meloeiro | Tratamento 1 - | | | Tratamento 2 | | | Tratamento 3 | | |
|----------------------|----------------|--------|--------|--------------|--------|--------|--------------|--------|--------|
| | Meio 1 | Meio 2 | Meio 3 | Meio 1 | Meio 2 | Meio 3 | Meio 1 | Meio 2 | Meio 3 |
| <i>Cantalupensis</i> | | | | | | | | | |
| Cor dos calos | 3,00 | 3,82 | 3,00 | 3,53 | 3,79 | 3,74 | 3,44 | 3,88 | 3,78 |
| Tamanho dos calos | 2,14 | 1,94 | 1,56 | 2,26 | 1,82 | 1,56 | 2,47 | 2,00 | 1,39 |
| Pontuações nos calos | 2,40 | 3,59 | 2,88 | 2,74 | 3,39 | 3,52 | 2,71 | 3,59 | 3,22 |
| <i>Inodorus</i> | | | | | | | | | |
| Cor dos calos | 2,45 | 2,14 | 2,19 | 2,83 | 2,88 | 1,97 | 2,96 | 2,40 | 1,17 |
| Tamanho dos calos | 1,94 | 1,33 | 1,03 | 1,97 | 1,31 | 1,00 | 1,58 | 1,35 | 1,00 |
| Pontuações nos calos | 2,48 | 2,38 | 1,87 | 2,47 | 2,38 | 1,90 | 2,79 | 2,20 | 1,63 |

Nota-se que em todas as médias obtidas a variedade *Cantalupensis* possui valores superiores, exceto para pontuações nos calos no controle 1 e no meio de cultivo 1.

Para a cor dos calos observaram-se em todos os meio de cultura e em todos os pré-tratamentos, notas superiores a 3,00 para a variedade *cantalupensis*, sendo o valor mínimo encontrado no tratamento 1 em meio 3 e o valor máximo de 3,88 no tratamento 3 em meio 3. Essa média implica que a maioria dos calos dessa variedade possuem cores que variam entre o verde claro e o verde escuro onde o tratamento mais eficiente para este resultado foi o 3 – calor em meio 2.

Já a variedade *inodorus*, em todos os meios de cultivo e pré-tratamentos apresentou notas inferiores a 3,00, observando-se (um o valor mínimo de 1,17 encontrada no meio 3 em tratamento 3, e um valor maximo de 2,96 observada no tratamento 3 e no meio 1). Dessa forma nota-se que essa variedade em boa parte

apresenta calos que variam entre a cor bege em sua totalidade e a mescla de bege e verde claro, indicando o melhor tratamento para cor nessa variedade foi tratamento calor, em meio 1.

As substâncias mais utilizadas na cultura de tecidos em Cucurbitáceas são as auxinas (ANA, AIA, 2,4-D) e citocininas (BAP, KIN, TDZ) (DONG et al., 2016). Kurtar, Balkaya e Kandemir (2016), em experimento realizado com o cultivo *in vitro* de anteras de abóbora (*Cucurbita maxima* Duch.) e moranga (*Cucurbita moschata* Duch.), conseguiram calos de coloração esverdeada e amarelada, sendo a frequência de calos embriogênicos maior nos calos de coloração esverdeada. Coloração semelhante foi observada na cultivar *Cantalupensis*, diferentemente da variedade *Inodorus* que apresentou boa parte de seus calos em tom de bege.

De acordo com Yamada e Sato (1978) conforme se aumenta o incremento de sacarose no meio de cultivo, o teor de clorofila diminui e, por consequência, a coloração verde das células. Isso se observou em relação à variedade *Inodorus* submetida ao tratamento de calor a 32°C no meio que possuía uma quantidade de 90g/L de sacarose diferindo da outra variedade que em diferentes doses de sacarose obteve média maior que 3 indicando maior teor de clorofila.

Para o tamanho dos calos, observou-se a diferenciação entre as duas cultivares avaliadas. A variedade *cantalupensis*, em praticamente todos os meios de cultivo e pré-tratamentos, apresentou valores superiores a 1,56, onde o seu valor máximo de 2,47 encontra-se no pré-tratamento três em meio um. A maioria dos calos dessa variedade apresentam tamanhos que variam entre pequeno e médio, apresentando melhor resultado no tratamento 3 (calor em meio 1)

De acordo com os dados obtidos com a variedade de *inodorus* em quase todos os meios de cultivo e pré-tratamentos foram obtidas notas inferiores a 1.94 (com intervalos entre 1,00 e 1,97, valores mínimos e máximos) com isso deduz-se que em sua maioria os tamanhos desta variedade apresentam a classificação de pequeno, tendo seu melhor resultado em M1 no tratamento 2 frio.

Em relação as pontuações presentes nos calos a variedade *cantalupensis* apresentou médias superiores a 2,40 encontrada no meio 1 no tratamento 1 (controle) e inferiores a 3,59 valor encontrado em meios iguais (M2) contudo em tratamentos distintos o de controle e calor respectivamente, onde em tais meios os resultados foram

os mais satisfatórios caracterizando pontuações intermediárias. Para a variedade *inodorus* apresentou uma única média superior a outra variedade, de 2,48 meio 1 no tratamento 1, contudo ao observar as demais, essa variedade apresenta valores menores variando de 1,63 encontrada no meio 3 em pré-tratamento 3 (de calor), para essa variedade sua melhor média encontrou-se no meio 1 em pré-tratamento controle resultando em uma característica de poucas pontuações.

Diversos aspectos influenciam a produção de haploides e dihaploides *in vitro* em cucurbitáceas, incluindo pré-tratamento a frio, choque térmico, composição do meio, genótipo da planta doadora, vigor e condições de crescimento (DONG et al., 2016).

Flores masculinas de pepino contendo microsporos no estágio uninucleado médio a tardio têm sido utilizadas para a androgênese e plantas que apresentam microsporos uninucleado mais tardio, geralmente contêm um vacúolo grande e o núcleo são observados próximos à parede celular (ABDOLLAHI et al., 2016; KUMAR & MURTHY, 2004; SONG et al., 2007; YAN et al., 2009; SUPRUNOVA & SHMYKOVA, 2008). Esses aspectos, enquanto a seleção das flores de meloeiro usadas no experimento, podem justificar a diferença entre as três variáveis nas duas espécies de *C. melo L* onde nota-se que a variedade *Cantalupensis* se sobressai em quase todas as medias.

Dos Santos (2019), afirma que a variedade botânica *Cantalupensis* apresentou melhores resultados quando comparada com a variedade *Inodorus*, onde respostas das anteras ao pré-tratamento no escuro com temperatura a 32 °C e uso dos reguladores 2,4-D com BAP foi mais eficiente na formação de calo.

6. CONCLUSÃO

Para a formação de calos no meio de indução, tanto a variedade *cantalupensis* quanto a *inodorus* não diferiram entre si quanto ao meio de cultivo e aos pré-tratamentos aplicados. df

Na fase de indução de maturação dos calos houve diferenciação quanto à cor, ao tamanho e as pontuações em relação às variedades, aos pré-tratamentos e aos meios de cultivos.

A variedade *cantalupensis* apresentou calos de tamanhos maiores, de coloração predominante verde e pontuações intermediarias.

A metodologia não foi eficiente para a obtenção de plantas haploides nas duas variedades estudadas.

REFERÊNCIAS

- ABDOLLAHI, M. R.; HOSKING, B.; RAVINDRAN, V., 2015. Nutrient analysis, metabolisable energy and ileal amino acid digestibility of palm kernel meal for broilers. *Anim. Feed. Sci. Technol.*, 206: 119-125.
- ABDOLLAHI, M., R.; NAJAFI, S.; SARIKHANI, H.; MOOSAVI, S. S. Induction and development of anther-derived gametic embryos in cucumber (*Cucumis sativus* L.) by optimizing the macronutrient and agar concentrations in culture medium. *Turkish Journal of Biology*, v. 40, p. 571-579, 2016.
- ALVES, D. F.; ALENCAR, M. O.; JUSTO, W. R.; JÚNIOR, F. L. A relevância da produção de melão na economia do nordeste. <<https://simpoer Fortal.br/wp-content/uploads/2018/10/21-A-relev%C3%A2ncia-da-produ%C3%A7%C3%A3o-de-mel%C3%A3o-na-economia-do-Nordeste.pdf>>. Acesso em: 20 de outubro 2019.
- Separation of Haploid Embryo Induced through Irradiated Pollen and Their Economic Analysis in Melon (*Cucumis melo* var. *inodorus*). *The Scientific World Journal*, vol. 2013, Article ID 529502, 7 pages, 2013.
- ASADI, A. et al. Assessment of different anther culture approaches to produce doubled haploids in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Euphytica*, v. 214, n. 11, p. 216, 2018.
- BAKTEMUR, G.; TAŞKIN, H.; BÜYÜKALACA, S. Comparison of Different Methods for Separation of Haploid Embryo Induced through Irradiated Pollen and Their Economic Analysis in Melon (*Cucumis melo* var. *inodorus*). *The Scientific World Journal*, vol. 2013, Article ID 529502, 7 pages, 2013.
- BAKTEMUR, G.; YÜCEL, N.K.; TAŞKIN, H.; ÇÖMLEKÇİOĞLU, S.; BÜYÜKALACA, S. Effects of different genotypes and gamma ray doses on haploidization using irradiated pollen technique in squash. *Turkish Journal of Biology*, 38, 318–327. <https://doi.org/10.3906/biy-1309-5>, 2014.
- CEAGESP. Disponível em: <http://www.ceagesp.gov.br/produtos/produtos/melao> Acesso em 13 setembro. 2019.
- COSTA, N. D. **O Cultivo do Melão**. 2ed. Brasília: EMBRAPA, 2008.
- DONG, Y. Q. et al. Androgenesis, gynogenesis, and parthenogenesis haploids in cucurbit species. *Plant cell reports*, v. 35, n. 10, p. 1991-2019, 2016.
- DUNWELL, J. M. Haploids in flowering plants: origins and exploitation. *Plant biotechnology journal*, v. 8, n. 4, p. 377-424, 2010.
- DRYANOVSKA, O. A. Induced callus in vitro from ovaries and anthers of species from Cucurbitaceae family. *C R Academie Bulgare Des Sciences*, 38 (9): 1243, 1985.
- DRYANOVSKA, O. A.; ILEVA, I.N. In vitro anther and ovule cultures in muskmelon 50 (*Cucumis melo* L.). *C R Academie Bulgare Des Sciences*, 36(8): 1107-1110, 1983.
- FAO. **Faostat – Statistics Database**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#home>> Acesso em 20 de outubro de 2019
- GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: part 1: the technology**. Edington: Exegetics, 1996. 574 p.

GOMES JÚNIOR, J.; MENEZES, J. B.; NUNES, G. H. S.; COSTA, F. B.; SOUZA, P. A. Qualidade pós-colheita do melão tipo Cantaloupe, colhido em dois estádios de maturação. **Horticultura Brasileira, Brasília**, v.19, n.3, p.356-360, 2001

HORTI FRUIT BRASIL. Disponível em <
<https://www.hfbrasil.org.br/br/revista/acessar/completo/anuario-2018-2019.aspx>>

Acesso em 20 de outubro de 2019

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Sistema IBGE de recuperação automática** - SIDRA. Disponível em <
<http://www.sidra.ibge.gov.br>> Acesso em 14 de maio de 2019.

JARAMILLO, J., SUMMERS, W.L. Dark-light treatments influence induction of tomato anther callus. **HortScience, Alexandria**, v. 26, n. 7, p. 915–916, 1991.

KOLI, S.P.; MURTHY, H.N. Haploid plant regeneration from unpollinated ovules of *Cucumis melo* L. var. *conomon* cv. *Mudicode*. **British Biotechnology Journal**, v. 3, n. 4, p. 605-613, 2013.

KOŠMRLJ, K., KASTELEC, D., & BOHANEK, B. Styrian oil pumpkin pollen germinability at higher irradiation doses: Optimization of the *in vitro* germination protocol and irradiation procedure. **Turkish Journal of Biology**, 38(4), 516–522. <https://doi.org/10.3906/biy-1402-58>, 2014.

KURTAR ES, SARI N, ABAK K (2002). Obtention of haploid embryos and plants through irradiated pollen technique in squash (*Cucurbita pepo* L.). **Euphytica** 127:335–344. DOI:10.1023/a:1020343900419.

KURTAR ES, BALKAYA A, OZBAKIR M, OFLUOGLU T (2009) Induction of haploid embryo and plant regeneration via irradiated pollen technique in pumpkin (*Cucurbita moschata* Duchesne ex. Poir). **Afr J Bio** 8:5944–5951

KURTAR ES, BALKAYA A (2010) Production of *in vitro* haploid plants from in situ induced haploid embryos in winter squash (*Cucurbita maxima* Duchesne ex Lam.) via irradiated pollen. **Plant Cell Tissue Organ Cult** 102:267–277

KURTAR, E. S., BALKAYA, A., & KANDEMIR, D. (2016). Evaluation of haploidization efficiency in winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.) and pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) through anther culture. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** (PCTOC), 127(2), 497–511. doi:10.1007/s11240-016-1074-6

LOPES JF; CARVALHO SIC; PESSOA HBSV. 1999. **Recursos Genéticos de melão e pepino na Embrapa Hortaliças**. In: QUEIROZ MA; GOEDERT CO; RAMOS SRR. (eds). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste Brasileiro Petrolina**: EMBRAPA-CPATSA/Brasília: EMBRAPA-CENARGEN MENEZES, J.B; FILGUEIRAS, H. A. C; ALVES, R.C.; MAIA, C.E.; ANDRADE, G C.; ALMEIDA, J. H. S; VIANA, F. M. P. Características do Melão para a exportação. In: ALVES, R. E. (Org) **Melão pós colheita**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI 200 p.13-22 (Frutas do Brasil,10)

NASCIMENTO NETO, J. R. Formas de aplicação e doses de nitrogênio e potássio no cultivo do meloeiro amarelo. Ceará: UFC, 2011. 77p. **Tese Doutorado**.

OLIVEIRA, F. I. C. de; NUNES, A. C.; SILVA, F. D.; SILVA, G. T. M. A.; ARAGAO, F. A. S. de. A cultura do melão. In: FIGUEIRÊDO, M. C. B. de; GONDIM, R. S.; ARAGÃO, F. A. S. de (Ed.). **Produção de melão e mudanças climáticas: sistemas conservacionistas de cultivo para redução das pegadas de carbono e hídrica**. Brasília, p. 19, 2008.

PARROTT WA, MERKLE SA, WILLIAMS EG (1991) Somatic embryogenesis: potential for use in propagation and gene transfer systems. In: **Murray DR (ed) Advanced methods in plant breeding and biotechnology**. CAB Int, Wallingford, UK, pp 158–200

PEDROSA, J. F. **Cultura do Melão**. Mossoró: ESAM, 1997. 50p. (Apostila)
PETERS, J.A., BOBROWSKI, V.L., ROSINHA, G.M.S. **Produção de produção e duplo haplóides**. In: Torres, A.C., Caldas, L.S., Buso, J.A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: EMBRAPA-SPI, EMBRAPA-CNPQ. 1999, p. 569-611

PITRAT, M.; HANELT, P.; HAMMER, K. **Some comments on infra-specific classification of cultivars of melon**. In: N. Katzir and H.S. Paris (eds.). Proc. Cucurbitaceae 2000. Acta Horticulturae. 510:29–36, 2000.

PITRAT, M. Melon. In: PROHENS J.; NUEZ F. (eds.) **Handbook of plant breeding. Vegetables I. Asteraceae, Brassicaceae, Chenopoidicaceae, and Cucurbitaceae**. Springer, USA, pp. 283–315, 2008.

PITRAT, M. **Phenotypic diversity in wild and cultivated melons (*Cucumis melo*)**. Plant Biotechnology 30, 273-278, 2013.

PRIORI, D. et al. Acervo do Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas da Embrapa Clima Temperado - 2002 a 2010. **Pelotas: Embrapa Clima Temperado**, 2010. 37p..

RASOUL AMIRIAN, ZOHREH HOJATI & PEJMAN AZADI (2019): Male flower induction significantly affects androgenesis in cucumber (*Cucumis sativus* L.), **The Journal of Horticultural**

SANTOS AA; CRISÓSTOMO JR; CARDOSO JW. 2004. **Avaliação de híbridos de melão quanto às principais doenças nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte**. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 14p

SAUTON, A.; DUMAS DE VAULX, R. **Obtention de plantes haploides chez le melon (*Cucumis melo* L.) par gynogenese induite par du pollen irradie**. Agronomie, 7: 141-148. 1987.

Science and Biotechnology, DOI: 10.1080/14620316.2019.1655488
ROBINSON R. W.; DECKER-WALTERS D. S Evolution and exploitation. In ROBINSON, R. W.; DECKER-WALTERS D. S (Ed). **Curcubis** New York: CAB International 1997. Cap.2 p.35.

SEGUÍ-SIMARRO, J.M.; NUEZ, F. Pathways to doubled haploidy: chromosome doubling during androgenesis. **Cytogenetic and Genome Research** 120(3-4): 358-369,

2008.

SONG H, LOU QF, LUO XD, WOLUKAU J, DIAO WP, QIAN CT, CHEN JF (2007) Regeneration of doubled haploid plants by androgenesis of cucumber (*Cucumis sativus* L.). **Plant Cell Tissue Organ Cult** 90:245–254

SUPRUNOVA, T.; SHMYKOVA, N. *In vitro* induction of haploid plants in unpollinated ovules, anther and microspore culture of *Cucumis sativus*. **IN: Proceedings of the IXth .**

EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae (Pitrat M, ed), INRA, Avignon (France), p. 371-374, 2008.

TORRES A. C.; FERREIRA, A. T; SÁ, F. G; BUSO, J. A; CALDAS, L. S; NASCIMENTO, A. S.; BRIGIDO, M. M.; ROMANO, E. **Glossario de Biotecnologia Vegetal**. Brasília Embrapa Hortaliças, 2000 128 p.

TOURAEV, A.; PFOSSER, M.; HEBERLE-BORS, E. The microspore: a haploid multipurpose cell. **Adv. Bot. Res.** v. 35, p. 53–109, 2001

VALOIS, A.C.C. **Impotência dos transgênicos para a agricultura. Caderno de Ciência e Tecnologia, Brasília**, v.18, n.1, p.27-53, jan./abr. 2001.

YASHIRO K, HOSOYA K, KUZUYA M, TOMITA K, EZURA E. Efficient production of doubled haploid melon plants by modified colchicines treatment of parthenogenetic haploids. **Acta Horticulturae**, v.588, p.335–338, 2002.

WĘDZONY, M.; FORSTER, B.P.; ZUR, I.; GOLEMIC, E.; SZECHYŃSKA-HEBDA, M.; DUBAS, E.; GOTEOWSKA, G. Progress in Doubled Haploid Technology in Higher Plants. In: Touraev A., Forster B.P., Jain S.M. (eds) **Advances in Haploid Production in Higher Plants**. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8854-4_1, 2. 2009.

YASIR, M., IMRAN, R., IRSHAD, M., MOHAMAD, N., & KHAN, M. (2016). **Leadership Styles in Relation to Employees' Trust and Organizational Change Capacity: Evidence from Non-Profit Organizations**. *SAGE Open*, 6(4), 1-12