



Scientia Agraria

ISSN: 1519-1125

sciagr@ufpr.br

Universidade Federal do Paraná  
Brasil

SCHMILDT, Omar; Romais SCHMILDT, Edilson; Teixeira do AMARAL, José Augusto  
CINETINA E ANA NA MULTIPLICAÇÃO IN VITRO DE MAMOEIRO 'TAINUNG 01'

Scientia Agraria, vol. 8, núm. 1, 2007, pp. 55-60

Universidade Federal do Paraná

Paraná, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=99516333007>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal

Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

## CINETINA E ANA NA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE MAMOEIRO ‘TAINUNG 01’

## KINETIN AND NAA IN VITRO MULTIPLICATION OF PAPAYA TREE ‘TAINUNG 01’

Omar SCHMILDT<sup>1</sup>  
Edilson Romais SCHMILDT<sup>2</sup>  
José Augusto Teixeira do AMARAL<sup>3\*</sup>

### RESUMO

O plantio comercial do mamoeiro, feito tradicionalmente por meio de sementes, apresenta limitações devido à polinização livre, resultando em variações na sua descendência pela descaracterização dos genótipos, comprometendo a qualidade das lavouras. A cultura de tecidos surge como alternativa viável para a produção de mudas isentas de doenças e com as características genéticas desejáveis da planta matriz. O objetivo deste trabalho foi o de identificar a melhor combinação dos diferentes níveis de cinetina (5,38; 10,76 e 21,52 mg L<sup>-1</sup>) e ANA (0,093; 0,931 e 1,862 mg L<sup>-1</sup>) para o estabelecimento *in vitro* em meio de cultura MS. Os explantes utilizados foram segmentos apicais de plantas juvenis de mamoeiro ‘Tainung 01’ com 10 semanas de idade. Após 30 dias, avaliaram-se as taxas de culturas sobreviventes, culturas reativas, massa de calos e, a cada subcultivo, a taxa de multiplicação dos explantes. Os explantes que melhor formaram rosetas foliares foram inoculados no meio de multiplicação durante cinco subcultivos, com repicagem a cada 30 dias. Os melhores resultados para percentual de sobrevivência, culturas reativas e taxa de multiplicação dos explantes ocorreram na combinação de 5,380 mg L<sup>-1</sup> de cinetina e 0,093 mg L<sup>-1</sup> de ANA no meio de estabelecimento.

**Palavras-chave:** *Carica papaya*; explante juvenil; combinação hormonal; micropropagação.

### ABSTRACT

The commercial planting of the papaya tree, done traditionally through seeds, it presents limitations due to the free pollination, resulting in variations in her descent for the decay of the genotypes, committing the quality of the farmings. The micropropagation appears as viable alternative for the production of exempt seedlings of diseases and with the desirable genetic characteristics of the main plant. The objective of this work was it of identifying the best combination of different levels Kinetin (5.38; 10.76 and 21.52 mg L<sup>-1</sup>) and NAA (0.093; 0.931 and 1.862 mg L<sup>-1</sup>) for the establishment *in vitro* in MS culture medium. The used explants were apical sections of juvenile plants of papaya tree ‘Tainung 01’ with 10 weeks of aged. After 30 days the rates of surviving cultures were evaluated, reactivate cultures, the calluses of mass and, to each subculture the multiplication rate of the explants. The explants that best formed rosette of leaves they were inoculated in proliferation medium during five subcultures, with transplantation every 30 days. The best results for the survival percentile reactivate cultures and multiplication rate was observed in the combination of 5.380 mg L<sup>-1</sup> of Kinetin and 0.093 mg L<sup>-1</sup> of NAA in the establishment medium.

**Key-words:** *Carica papaya*; juvenile explant; hormonal combination; micropropagation.

<sup>1</sup> Engenheiro Agrônomo, MS em Produção Vegetal/CAPES;

<sup>2</sup> Engenheiro Agrônomo, Dr., Prof. Adjunto, CEUNES, Universidade Federal do Espírito Santo;

<sup>3</sup> Engenheiro Agrônomo, Dr., Prof. Adjunto, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, C.P. 16, CEP 29500-000, Alegre-ES.

\* Autor correspondente: jata@cca.ufes.br .

## INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma espécie típica de regiões tropicais e subtropicais da América, sendo uma das principais fruteiras cultivadas. O Brasil é o maior produtor de mamão, contribuindo com 25% da produção mundial (AGRIANUAL, 2004).

A propagação em plantios comerciais de mamoeiro tem sido efetuada tradicionalmente por meio de sementes. A maioria das sementes dos cultivares utilizados nas regiões produtoras de mamão é proveniente de frutos de polinização livre, sem controle efetivo da polinização. Desse modo, os cultivares sofrem variações na sua descendência, causando descaracterização dos genótipos, comprometendo a qualidade das lavouras (DREW, 1987; COSTA e PACOVA, 2003). Outra desvantagem é a necessidade de se colocar de duas a três mudas por cova, tendo que fazer o desbaste das plantas após o início do florescimento, em torno de três a quatro meses após o plantio, quando se torna possível a identificação do sexo das plantas, deixando uma planta por cova, preferencialmente hermafrodita, devido ao fruto desta apresentar bom padrão comercial (COSTA *et al.*, 2003).

A propagação vegetativa é uma forma de multiplicar plantas de modo a manter as características genéticas das plantas-matrizes (SÃO JOSÉ e MARIN, 1988). No entanto, para a cultura do mamoeiro, a propagação vegetativa (estaquia e enxertia) não é utilizada em escala comercial. Isto ocorre em função da pequena quantidade de brotos laterais produzidos pela planta mãe, em face da sua forte dominância apical (MODESTO e SIQUEIRA, 1981; REUVENI e SHLESINGER, 1990) e também devido à dificuldade de enraizamento das estacas (GRANA JUNIOR, 2000). Observadas as desvantagens na utilização de sementes, assim como as dificuldades na propagação vegetativa por estaquia ou enxertia para o mamoeiro, a cultura de tecidos pode constituir um método auxiliar na produção eficiente de mudas de mamoeiro com alta qualidade fitossanitária e genética, além de produzir um grande número de mudas provenientes de um único explante.

Normalmente na micropropagação os reguladores de crescimento constituem-se numa primeira etapa a ser abordada, em que o modo de interação entre auxinas e citocininas é freqüentemente dependente da espécie da planta e do tipo de tecido utilizado no meio de cultura (COENEN e LOMAX, 1997). A adição de reguladores de crescimento em meios de cultura tem o objetivo de suprir possíveis deficiências dos teores endógenos de hormônios nos explantes que se encontram isolados das regiões produtoras da planta-matriz. As auxinas e as citocininas são as classes de reguladores de crescimento mais utilizadas na cultura de tecidos vegetais. A formação de raiz, parte aérea e calo em cultura de tecidos vegetais é regulada pela disponibilidade e interação destas duas classes de reguladores de crescimentos (SKOOG e MILLER, 1957; HUSSEY, 1978). Os níveis e os tipos de

reguladores de crescimento são de grande importância nas etapas de estabelecimento e multiplicação dos explantes em meios de cultura. Para explantes de mamoeiro, uma das combinações mais utilizadas e eficazes para a fase de estabelecimento é ANA (ácido á-naftalenoacético) e cinetina (6-furfurilaminopurina), e para a fase de multiplicação dos explantes, a combinação entre ANA e BAP (6-benzilaminopurina) (LITZ e CONOVER, 1977; RAJEEVAN e PANDEY, 1986; SCHMILDT, 1994). As auxinas atuam na expansão e alongamentos celulares, bem como na divisão celular juntamente com as citocininas na cultura de tecidos vegetais (KRIKORIAN, 1991). De acordo com Hu e Wang (1983), existem diferenças entre as citocininas, onde o BAP é importante para induzir a formação de grande número de brotações e aumentar a taxa de multiplicação em muitos sistemas de micropropagação, enquanto que a cinetina não promove brotações múltiplas, havendo somente o crescimento normal dos explantes.

A ausência na resposta a um regulador de crescimento é freqüentemente um problema maior quando são utilizados explantes de plantas adultas, em comparação com o material juvenil (BONGA e VONADERKAS, 1992). Em mamoeiro é possível o cultivo de segmentos apicais e gemas laterais de plantas adultas (DREW, 1987; VIANNA, 1996), embora com limitações nos subcultivos *in vitro*. Uma alternativa apropriada é efetuar a multiplicação de segmentos apicais a partir de plantas juvenis (SCHMILDT, 1994; TEIXEIRA e TEIXEIRA, 2004).

O sistema de multiplicação por meio da proliferação das gemas axilares, utilizando como explantes segmentos apicais de plantas juvenis pode constituir-se numa forma alternativa para o estabelecimento e multiplicação do mamoeiro 'Tainung 01'.

Este trabalho teve por objetivo determinar a melhor combinação de níveis dos reguladores de crescimento cinetina e ANA no meio MS, para o estabelecimento *in vitro* de mamoeiro 'Tainung 01', avaliando-se o comportamento das plântulas até ao quinto subcultivo.

## METODOLOGIA

O experimento foi conduzido em casa de vegetação e laboratório de Biotecnologia Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, localizado no município de Alegre, situada a uma altitude aproximada de 270 m e coordenadas geográficas de 20 ° 45' 48" S e 41 ° 31' 57" W (ESPÍRITO SANTO, 1994).

Em casa de vegetação foram produzidas as plantas doadoras de explantes. A semeadura foi feita em sacolas de polietileno pretas de 15 x 20 cm, com uma semente por recipiente, utilizando-se mamoeiro 'Tainung 01', geração F<sub>1</sub>, contendo substrato constituído de terriço, areia e esterco bovino na proporção de 3:1:1, respectivamente. O substrato foi adubado com 0,2 kg de sulfato de amônio, 0,2 kg de cloreto de potássio e 0,6 kg de superfosfato simples para cada 150 litros da mistura. As plantas receberam

uma pulverização com o fungicida Metilthiofan a 0,5 g L<sup>-1</sup>, dois dias antes da retirada dos explantes.

Os explantes utilizados foram segmentos apicais de aproximadamente 5 mm de comprimento, obtidos de plantas juvenis de mamoeiro 'Tainung 01' com 10 semanas de idade e com altura entre 40 e 70 cm. A desinfestação dos explantes foi feita em câmara de fluxo laminar horizontal, com álcool a 70% por 30 segundos e com hipoclorito de sódio a 1% por 15 minutos. Em seguida foram enxaguados por três vezes com água deionizada e autoclavada.

O meio de cultura de estabelecimento constituiu-se de sais e vitaminas de MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) suplementado de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 7 g L<sup>-1</sup> de ágar e reguladores de crescimento, constituindo os seguintes tratamentos: cinetina, nas concentrações de 5,38; 10,76 e 21,52 mg L<sup>-1</sup>, associada aos níveis de ANA de 0,093; 0,931 e 1,862 mg L<sup>-1</sup>. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,7 ± 0,1 antes da adição do ágar. O meio de cultura foi distribuído em tubos de ensaio com dimensões de 25 x 150 mm, contendo 20 ml por tubo, e autoclavado por 20 minutos à temperatura de 121 °C e à pressão de 1,05 kg cm<sup>-2</sup>. Utilizou-se um explante por tubo, sendo, então, transferidos para sala de crescimento, sob lâmpadas fluorescentes fornecendo 25,2 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> de fluxos de fótons fotossintéticos, 16 horas de fotoperíodo e temperatura de 27 ± 2 °C, permanecendo nestas condições por um período de 30 dias. Findo esse tempo, avaliaram-se as porcentagens de culturas sobreviventes, reativas e os pesos da matéria fresca de calos, sendo consideradas reativas as culturas que formaram roseta foliar. Para calcular a porcentagem de culturas reativas foram utilizadas as culturas sobreviventes. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, utilizando o esquema fatorial 3 x 3 (3 níveis de auxina e 3 níveis de citocinina), com 3 repetições, sendo que cada repetição foi constituída por 10 tubos de ensaio. Os tratamentos constaram da adição ao meio de cultura dos reguladores de crescimento citocinina (cinetina) e auxina (ANA), nas diferentes combinações entre os níveis destes fatores. Os dados foram analisados por meio da análise de variância e as médias dos tratamentos representadas por análise estatística descritiva.

As culturas reativas foram recultivadas em meio de multiplicação, constituído de sais e vitaminas de MS, suplementado de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 7 g L<sup>-1</sup> de ágar, 30 mg L<sup>-1</sup> de sulfato de adenina, 0,093 mg L<sup>-1</sup> de ANA e 0,45 mg L<sup>-1</sup> de BAP. As condições de ambiente de cultivo foram as mesmas utilizadas para o meio de estabelecimento. Os tuos de ramos foram subcultivados a cada 30 dias, durante 5 meses. Inicialmente, transferiu-se 30 ml do meio de cultura para frascos de vidro de 240 ml de capacidade. Nesta fase, o experimento foi disposto em um delineamento

inteiramente casualizado. O experimento teve 7 repetições por tratamento, sendo que cada repetição foi constituída de 9 frascos. Os explantes provenientes dos três melhores tratamentos observados na fase de estabelecimento dos explantes (0,093 mg L<sup>-1</sup> de ANA com 5,38 mg L<sup>-1</sup> de cinetina; 0,931 mg L<sup>-1</sup> de ANA com 5,38 mg L<sup>-1</sup> de cinetina; 1,862 mg L<sup>-1</sup> de ANA com 5,38 mg L<sup>-1</sup> de cinetina) foram utilizados na fase de multiplicação e foram avaliados separadamente para verificar o efeito residual dos reguladores utilizados anteriormente na fase de estabelecimento, em que se avaliou o número de ramos aptos ao enraizamento (maiores que 5 mm) ao longo de 5 subcultivos. Os dados foram submetidos à análise de variância e à análise de regressão.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As culturas sobreviventes são todas aquelas que não foram contaminadas por fungos e bactérias e apresenta-se sem clorose ao final do experimento no meio de estabelecimento. Não houve interação significativa entre ANA e cinetina para culturas sobreviventes. Observa-se, na Figura 1, que os melhores níveis de cinetina e ANA foram, respectivamente, 5,38 mg L<sup>-1</sup> e 0,093 mg L<sup>-1</sup>, atingindo aproximadamente 80% de explantes estabelecidos. Em condições experimentais semelhantes RAJEEVAN e PANDEY (1983), obtiveram apenas 50% de sobrevivência, trabalhando com a variedade 'Coorg Honey Dew'. Resultados superiores foram obtidos por SCHMILDT (1994), conseguindo 90% de sobrevivência para o híbrido 'Tainung 01' geração F<sub>2</sub> e, 92,5% para a variedade 'Sunrise Solo Line 72/12'.

A combinação dos níveis de cinetina e ANA de 5,38 mg L<sup>-1</sup> e 0,093 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, proporcionou 100% de culturas reativas (Figura 2). Esses valores são superiores: aos 40% observados por RAJEEVAN e PANDEY (1986), tanto em explantes de plântulas quanto em plantas adultas; aos 11% obtidos por WINNAAR (1988) em explantes de plantas adultas; aos 37,5% encontrados por SCHMILDT (1994) com tecido juvenil; e aos 83,4% detectados por SCHMILDT e AMARAL (2002), utilizando explantes de plântulas de três meses de idade. As culturas reativas são todos aqueles explantes que formaram roseta foliar em meio de estabelecimento, visíveis a olho nu a partir de 18 dias após a inoculação nos tubos de ensaio. A roseta foliar é de grande importância para a cultura na micropropagação durante a fase de estabelecimento, indicando haver uma adaptação dos explantes às condições *in vitro* e isenção de contaminantes, de modo que estas irão propiciar reação à aplicação de reguladores de crescimento na fase seguinte, que é a de multiplicação.

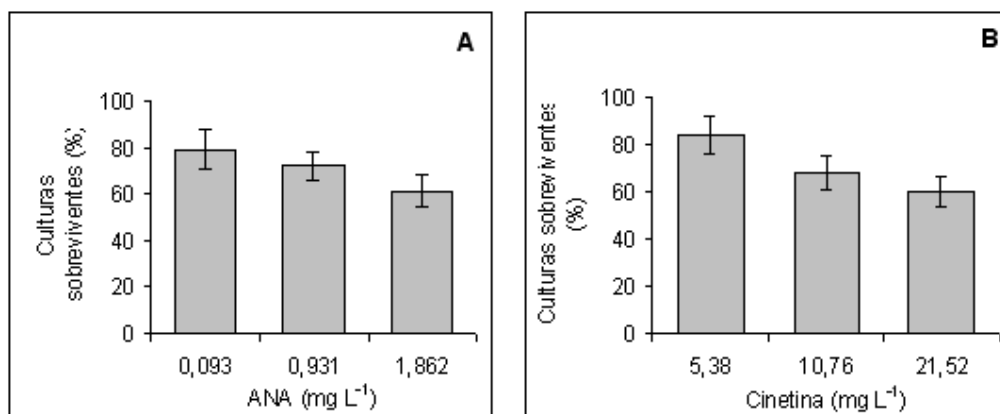


FIGURA 1 – Percentual de culturas sobreviventes de explantes de mamoeiros 'Tainung 01', após 30 dias em meio de estabelecimento contendo diferentes níveis de ANA (A) e cinetina (B). (As barras verticais indicam os erros padrões da média).

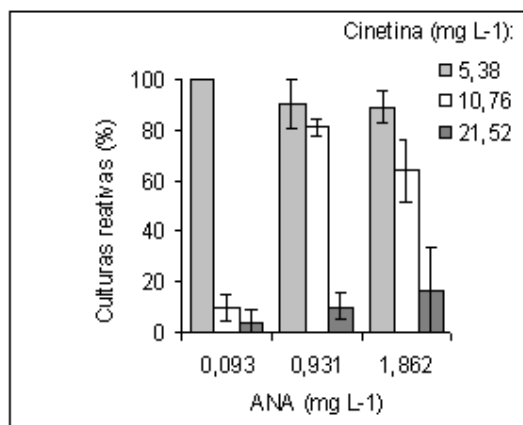


FIGURA 2 – Percentual de culturas reativas de explantes de mamoeiros 'Tainung 01', após 30 dias em meio de estabelecimento contendo diferentes níveis de ANA e cinetina. (As barras verticais indicam os erros padrões da média).

A combinação de cinetina e ANA que proporcionou o menor peso da matéria fresca de calo foi, respectivamente, de 5,38 mg L<sup>-1</sup> e 0,093 mg L<sup>-1</sup>, verificando ser a mais importante para a produção de clones que é o objetivo do trabalho, e a combinação que proporcionou o maior peso da matéria fresca de calo foi de 1,862 mg L<sup>-1</sup> de ANA e 5,38 mg L<sup>-1</sup> de cinetina, sendo a mais indicada para os trabalhos de micropropagação usando as vias organogênica e embriogênica indiretas (Figura 3). Todavia, em condições experimentais semelhantes os resultados discordam daqueles encontrados por VIANNA (1996), onde ele obteve intensa formação de calos ao combinar 5,38 mg L<sup>-1</sup> de cinetina com 0,093 mg L<sup>-1</sup> de ANA, sendo que o autor utilizou plantas adultas, enquanto que neste trabalho foram utilizadas plantas juvenis.

Segundo TORRES e CALDAS (1990), calo é uma massa de células não organizadas, em crescimento desordenado e irregularmente diferenciadas. A maior possibilidade de variações somaclonais a partir de calo pode ser importante para os trabalhos de melhoramento de plantas, mas indesejável na clonagem de plantas por meio do cultivo *in vitro*. De acordo com GRATAPAGLIA e MACHADO (1998), o ANA é muito utilizado em meio de estabelecimento, mas se adicionado em concentrações pouca acima das ótimas, pode estimular a formação de calo.

Os tratamentos da fase de estabelecimento que proporcionaram as maiores porcentagens de explantes reativos foram utilizados na fase de multiplicação. Esses tratamentos foram os que continham 5,38 mg L<sup>-1</sup> de cinetina e as combinações de ANA de 0,093 mg L<sup>-1</sup>, 0,931 mg L<sup>-1</sup> e 1,862 mg L<sup>-1</sup> (Figura 2).

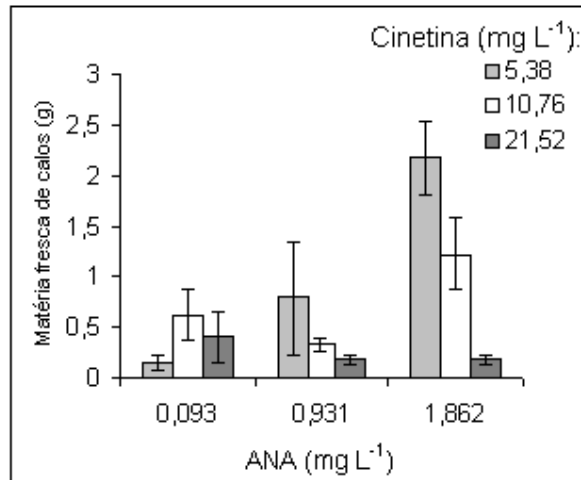


FIGURA 3 – Matéria fresca de calos de explantes de mamoeiros 'Tainung 01', após 30 dias em meio de estabelecimento contendo diferentes níveis de ANA e cinetina. (As barras verticais indicam os erros padrões da média).

Avaliando-se o desenvolvimento dos explantes durante 5 subcultivos *in vitro* (Figura 4), considerando o efeito residual dos reguladores utilizados anteriormente na fase de estabelecimento, verificou-se que a combinação dos níveis considerados ideais na fase de estabelecimento (Figuras 1, 2 e 3) foi 5,38 mg L<sup>-1</sup> e 0,093 mg L<sup>-1</sup> de cinetina e ANA, respectivamente, foi a que manteve uma taxa de multiplicação de explantes relativamente alta e constante de 5,288:1. A combinação de 1,862 mg L<sup>-1</sup> de ANA e 5,38 mg L<sup>-1</sup> de cinetina apresentou uma taxa de multiplicação baixa (2,432:1) e constante. Já a combinação de 0,931 mg L<sup>-1</sup> de ANA com 5,38 mg L<sup>-1</sup>

de cinetina apresentou uma taxa de multiplicação boa no primeiro subcultivo, decaindo posteriormente, não sendo interessante para a multiplicação dos explantes *in vitro* (Figura 4). Num trabalho utilizando diferentes variedades de mamão e em diferentes meios contendo BAP e ANA, SAHA *et al.* (2004), obtiveram resultados superiores aos do presente estudo, observando taxas de multiplicação de 8,3:1, para a variedade 'Washington', enquanto que para as demais variedades os autores encontraram taxas de 6,16:1, 5,9:1 e 4,14:1, para 'Co-5', 'Madhur' e 'Pusa Dwarf', respectivamente, semelhantes aos resultados alcançados neste trabalho.

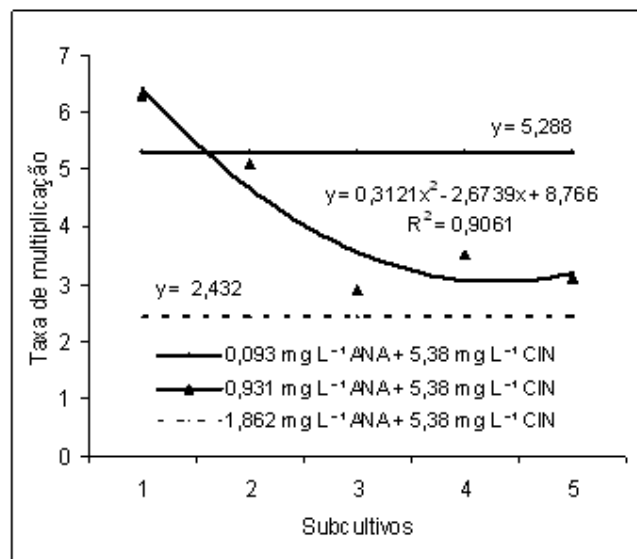


FIGURA 4 – Taxa de multiplicação de explantes de mamoeiros 'Tainung 01', em meio de multiplicação, durante 5 subcultivos. As doses de ANA + cinetina (CIN) indicadas na legenda referem-se aos melhores tratamentos na fase de estabelecimento dos explantes.

## CONCLUSÕES

a) A taxa de multiplicação dos explantes nos subcultivos é influenciada pelos níveis de cinetina e ANA utilizados na fase anterior de estabelecimento.

b) A combinação de 5,380 mg L<sup>-1</sup> de cinetina e 0,093 mg L<sup>-1</sup> de ANA no meio de estabelecimento promove melhores resultados para percentual de

sobrevivência, culturas reativas e taxa de multiplicação *in vitro* de explantes de mamoeiro 'Tainung 01'.

## AGRADECIMENTO

Ao Banco do Nordeste do Brasil S.A. pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

1. AGRICULTURAL 2004: **Anuário estatístico da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2004. 496 p.
2. BONGA, J.M.; VONADERKAS, P. **In vitro culture of trees**. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1992. 236 p.
3. COENEN, C.; LOMAX, T.L. Auxin-cytokinin interactions in higher plants: old problems and new tools. **Trends in Plant Science**, v. 2, n. 9, p. 351-356, 1997.
4. COSTA, A. de F.S. da; COSTA, A.N. da; SANTOS, F.A.M. dos; BARRETO, F.C.; ZUFFO, V.J. Plantio, formação e manejo da cultura. In: MARTINS, D. dos S.; COSTA, A. de F.S. da (Ed.). **A cultura do mamoeiro**: tecnologias de produção. Vitória: INCAPER, 2003. p.127-159.
5. COSTA, A. de F.S. da; PACOVA, B.E.V. Caracterização de cultivares, estratégias e perspectivas do melhoramento genético do mamoeiro. In: MARTINS, D. dos S.; COSTA, A. de F.S. da (Ed.). **A cultura do mamoeiro**: tecnologias de produção. Vitória: INCAPER, 2003. p. 59-102.
6. DREW, R.A. The effects of medium composition and conditions on *in vitro* initiation and growth of papaya (*Carica papaya* L.). **Journal of Horticultural Science**, v. 62, n. 4, p. 551-556, 1987.
7. ESPÍRITO SANTO. Secretária de Estado de Ações Estratégicas e Planejamento. Departamento Estadual de Estatística. **Informações municipais do estado do Espírito Santo**. Vitória, 1994. v. 1. 803 p.
8. GRANA JUNIOR, J.F. **Fitorreguladores na quebra da dominância apical e no enraizamento das brotações laterais em mamoeiros (Carica papaya L.)**. Botucatu, 2000. 68 f. Dissertação (Mestrado em Horticultura) – Universidade Estadual Paulista.
9. GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI / EMBRAPA-CNPq, 1998. v. 1. p.183-260.
10. HU, C.Y.; WANG, P.J. Meristem, shoot tip, and bud culture. In: EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; AMIRATO, P.V.; YAMADA, Y. (Eds.). **Handbook of plant cell culture**. New York: Macmillan, 1983. v. 1. p.177-227.
11. HUSSEY, G. The application of tissue culture to the vegetative propagation of plants. **Science Progress**, v. 65, p. 185-208, 1978.
12. KRICKORIAN, A.D. **Medios de cultivo: generalidades, composición e preparación**. In: ROCA, W.M.; MROGINSKY, L.A. (Eds.). **Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones**. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1991. p. 41-77.
13. LITZ, R.E.; CONOVER, R.A. Tissue culture propagation of papaya. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 90, p. 245-246, 1977.
14. MODESTO, Z.M.; SIQUEIRA, M.J.B. **Botânica**. São Paulo: EPU, 1981. 341 p.
15. MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.
16. RAJEEVAN, M.S.; PANDEY, R.M. Lateral bud culture of papaya (*Carica papaya* L.) for clonal propagation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 6, n. 2, p. 181-188, 1986.
17. RAJEEVAN, M.S.; PANDEY, R.M. Propagation of papaya through tissue culture. **Acta Horticulturae**, v. 131, p. 131-139, 1983.
18. REUVENI, O.; SHLESINGER, D.R. Rapid vegetative propagation of papaya plants by cuttings. **Acta Horticulturae**, n. 275, p. 301-306, 1990.
19. SAHA, M.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. *In vitro* culture studies in four dioecious varieties of *Carica papaya* L. using axillary buds from field-grown plants. **Journal of Tissue Research**, v. 4, n. 2, p. 211-214, 2004.
20. SÃO JOSÉ, A.R.; MARIN, S.L.D. Propagação do mamoeiro. In: RUGGIERO, C. (Ed.). **Mamão**. Jaboticabal: FUNEP, 1988. p. 177-196.
21. SCHMILDT, E.R.; AMARAL, J.A.T. do. Contaminação e reação morfogênica *in vitro* de explantes de mamoeiro. **Revista Ceres**, v. 49, n. 281, p. 63-70, 2002.
22. SCHMILDT, E.R. **Enraizamento In vitro e Ex vitro de ramos de mamoeiro (Carica papaya L.)**. Viçosa, 1994. 76 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa.
23. SKOOG, F.; MILLER, F.O. Chemical regulation of organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. **Symposium Society Experimental Biology**, v. 11, p. 118-131, 1957.
24. TEIXEIRA, M.T.; TEIXEIRA, S.L. Estabelecimento de segmentos apicais de mamoeiro *in vitro*. **Revista Ceres**, v. 51, n. 296, p. 477-483, 2004.
25. TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP, EMBRAPA-CNPq, 1990. 433 p.
26. VIANNA, G.R. **Micropropagação do mamoeiro (Carica papaya L.) utilizando ápices caulinares de plantas adultas**. Viçosa, 1996. 66 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa.
27. WINNAAR, W. Clonal propagation of papaya *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 12, n. 3, p. 305-310, 1988.