

Resposta rizogênica *in vitro* de ápices caulinares de mamoeiro ‘Tainung 01’ em diferentes tempos de permanência em meios de indução e regeneração

Edilson Romais Schmidt¹, José Augusto Teixeira do Amaral^{2*}, Omar Schmidt³, Ruimário Inácio Coelho², Wanderson Souza Rabello³ e Sebastião Martins Filho⁴

¹Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus, Espírito Santo, Brasil.

²Centro Agropecuário, Universidade Federal do Espírito Santo, Cx. Postal 16, 29500-000, Alegre, Espírito Santo, Brasil. ³Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense “Darcy Ribeiro”, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil. ⁴Departamento de Informática, Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. *Autor para correspondência: E-mail: jata@cca.ufes.br

RESUMO. Este trabalho teve como objetivo avaliar a resposta rizogênica *in vitro* de ápices caulinares de plantas jovens de mamoeiro ‘Tainung 01’, em diferentes tempos de permanência em meios de indução e regeneração. O meio de indução empregado foi o MS, suplementado com complementos orgânicos constituídos de sacarose, mio-inositol, tiamina, piridoxina, ácido nicotínico, além de AIB. O meio de regeneração diferiu do meio de indução por ser desprovido de AIB. Os tratamentos consistiram em tempos variáveis de permanência dos explantes nos meios de indução e de regeneração (indução/regeneração): 0/25; 5/20; 10/15; 15/10; 20/5 e 25/0 dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições, e cada unidade experimental foi representada por cinco tubos de ensaio. O modelo utilizado para explicar o percentual de enraizamento e o comprimento da maior folha, em função do tempo de permanência dos ramos no meio de indução, apresentou pontos máximos em torno de 16 dias. Para as variáveis número de raízes e maior alongamento dos ramos, foram obtidas maiores respostas aos 15 dias, aproximadamente. Conclui-se que, para um bom padrão de enraizamento, é imprescindível a permanência dos ramos em meio de indução em um período de 15 a 16 dias.

Palavras-chave: *Carica papaya*, auxina, micropropagação, cultura de tecidos.

ABSTRACT. *In vitro* rhizogenesis response of stem apices of ‘Tainung 01’ papaya tree in different times of permanence in induction and regeneration media. The objective of this work was to evaluate the *in vitro* rhizogenesis response of stem apices of young plants of ‘Tainung 01’ papaya tree in different times of permanence in induction and regeneration media. The induction medium was MS, supplemented with organic complements constituted of sucrose, myo-inositol, thiamin, pyridoxine, nicotinic acid and AIB. The regeneration medium differed from the induction medium because it does not have AIB. The treatments consisted of variable times of permanence of the explants in the induction and regeneration media (induction/regeneration): 0/25; 5/20; 10/15; 15/10; 20/5 and 25/0 days. The experimental design was completely randomized, with six treatments and four repetitions, with each experimental unit represented by five test tubes. The maximum rooting and the maximum length of the largest leaf were obtained around 16 days after the branches were incubated in the induction medium. For the variables ‘number of roots’ and ‘larger prolongation of the branches’, the maximum results were obtained after approximately 15 days in the induction medium. Therefore, this work concludes that, for good rooting pattern, the permanence of the branches in medium of induction for a period of 15 to 16 days is essential.

Key words: *Carica papaya*, auxin, micropropagation, tissue culture.

Introdução

Em virtude da inexistência de protocolos de propagação assexual do mamoeiro pelas técnicas convencionais, esta espécie tem sido propagada tradicionalmente pela semente, apesar dos problemas genéticos que ele apresenta, principalmente quanto à

herança do sexo das plantas (TEIXEIRA; TEIXEIRA, 2004). Essa segregação exige a eliminação das plantas femininas em plantios comerciais, por ocasião do início do florescimento (três a cinco meses após o plantio). Como não se conhece o sexo das plantas no início do plantio, os agricultores plantam pelo menos três mudas

por cova, o que aumenta os custos de produção, além de afetar o desenvolvimento das plantas hermafroditas em razão da competição (COSTA et al., 2003).

Na busca por alternativas à propagação semínifera, a micropropagação torna-se excelente técnica para diversas espécies, sobretudo na fruticultura (NAND et al., 2004; CATUNDA et al., 2008; NOMURA et al., 2008; ROCHA et al., 2008; VILLA et al., 2008). Para o mamoeiro, no entanto, a rizogênese é um dos entraves ao processo micropropagativo (TEO; CHAN, 1994; YU et al., 2000; AGNIHOTRI et al., 2004). Segundo Teo e Chan (1994), é mais fácil induzir enraizamento em culturas como cálam, citros e gengibre do que em mamão.

O processo de enraizamento é muito complexo, envolvendo fatores intrínsecos (fisiológicos e bioquímicos), que interagem com os fatores extrínsecos inerentes ao meio de cultivo e às condições climáticas da câmara de crescimento (MEIRA, 1999). A complexidade aumenta em função da variabilidade genética, com a ocorrência de uma multiplicidade de espécies e cultivares (GEORGE et al., 2008). Assim, o desenvolvimento *in vitro* deve seguir uma sequência de eventos coordenados no tempo, e qualquer alteração que influencie essa cadeia de transdução de sinal pode resultar em desarranjo na resposta morfogênica (MEIRA, 1999).

Os hormônios são considerados moduladores de crescimento e desenvolvimento das plantas. O controle do desenvolvimento de raízes é influenciado por substâncias reguladoras de crescimento, e as auxinas promovem a formação de primórdios radiculares adventícios (KERBAUY, 2004; TAIZ; ZEIGER, 2004). O enraizamento compreende duas etapas: a primeira, que é a fase de indução, requer auxina para a ótima formação de raízes; a segunda fase compreende a iniciação e o alongamento, na qual a auxina tem efeito inibitório. Todavia, o sucesso no enraizamento depende não apenas do percentual de enraizamento obtido, mas também do número e da qualidade das raízes formadas (GEORGE et al., 2008). Em geral, a disposição de ramos à presença de auxina por longo período pode ser prejudicial ao processo de enraizamento, podendo afetar o número e o comprimento dessas raízes (TAIZ; ZEIGER, 2004). O AIB tem sido o fitoregulador mais utilizado na indução do enraizamento *in vitro* do mamoeiro (DREW et al., 1993; SCHMILDT et al., 1997; YU et al., 2000), mas o contato do explante com AIB, por tempo prolongado, ocasiona redução no alongamento e número de raízes (SCHMILDT et al., 1997).

A necessidade de utilização de duas fases distintas para o enraizamento *in vitro*, aplicando-se auxina por um período determinado – a de indução, seguida de transferência para outro meio de cultura, a de regeneração tem sido utilizada por outros autores (SCHMILDT et al., 1997; YU et al., 2000; HOFFMANN et al., 2001; McCUBBIN; STADEN, 2003; NAND et al., 2004). Em mamoeiro, Drew et al. (1993) e McCubbin e Staden (2003) usaram um período de três dias de indução, enquanto que Schmildt et al. (1997) usaram cinco dias e Yu et al. (2000) usaram 14 dias. Não obstante, há carência de informações conclusivas na literatura sobre avaliações no enraizamento de explantes de mamoeiro em meios de indução e de regeneração ao longo do tempo de cultivo *in vitro*.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta rizogênica *in vitro* de ápices caulinares de mamoeiros (*Carica papaya* L.) ‘Tainung 01’ em diferentes tempos de permanência em meios de indução e de regeneração.

Material e métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUFES), localizado no município de Alegre, Estado do Espírito Santo.

Os ramos micropropagados de mamoeiro (*Carica papaya* L.) ‘Tainung 01’, geração F₁, foram obtidos a partir de ápices caulinares de plantas cultivadas em casa-de-vegetação, com quatro meses de idade. Os explantes foram multiplicados no Laboratório por quatro subcultivos em meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado de 0,45 mg L⁻¹ de BAP (6-Benzilaminopurina), 0,09 mg L⁻¹ de ANA (ácido α -naftalenoacético) e 30 mg L⁻¹ de sulfato de adenina. Os ápices caulinares coletados, em número de 120, foram padronizados em 1,5 cm de comprimento, contendo quatro folhas visíveis. Inicialmente, os ramos foram submetidos ao cultivo *in vitro*, em meio semi-sólido (meio de indução), contendo sais de MS e complementos orgânicos com 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de mio-inositol, 0,1 mg L⁻¹ de tiamina-HCl, 0,5 mg L⁻¹ de piridoxina-HCl, 0,5 mg L⁻¹ de ácido nicotínico e 0,2 mg L⁻¹ de AIB (ácido 3-indolbutírico), conforme Schmildt et al. (2007). Após períodos de tempos variáveis de permanência no meio de indução, os ramos foram transferidos para meio de regeneração, que difere do meio de indução por ser desprovido de AIB. As condições de cultivo foram as mesmas do meio de indução.

O meio de cultivo, com pH regulado em 5,7, foi padronizado para o volume de 20 mL, contido em

tubos de ensaio (25 x 150 mm). A seguir, os tubos foram autoclavados a 121°C e pressão de 15 lib pol⁻², durante 15 min. Os ramos foram cultivados *in vitro* em sala de crescimento, sob lâmpadas fluorescentes, luz do dia, fornecendo 22,8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de fluxos de fótons fotossintéticos, com fotoperíodo de 16h e temperatura controlada em 27±2°C.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições. Cada unidade experimental foi constituída de cinco tubos de ensaio, com um ramo por tubo. Os tempos de permanência dos ramos nos meios de indução e de regeneração (indução/regeneração) constituíram os tratamentos: 0/25; 5/20; 10/15; 15/10; 20/5 e 25/0 dias.

Transcorridos 25 dias de cultivo, foram realizadas as avaliações relativas a percentagem de ramos enraizados, crescimento dos ramos, comprimento da maior folha, número e comprimento de raízes adventícias, segundo metodologia descrita por Schmildt et al. (1997), além da evolução do enraizamento, medido a cada cinco dias. Os resultados foram submetidos à análise de regressão, utilizando o software SAEG (EUCLYDES, 2004).

Resultados e discussão

O período de tempo de permanência dos ramos nos meios de indução e regeneração (indução/regeneração) influenciou significativamente a percentagem de enraizamento (Figura 1). Os ramos que não passaram pela fase de indução, isto é, os que permaneceram 25 dias em meio de regeneração, o qual não continha AIB, apresentaram os menores percentuais estimados de enraizamento (17,7%). O maior valor para o percentual de enraizamento (62,7%) foi estimado para o tempo de indução de 15,7 dias. Maiores períodos de tempo de permanência dos ramos no meio de indução ocasionaram diminuição no enraizamento.

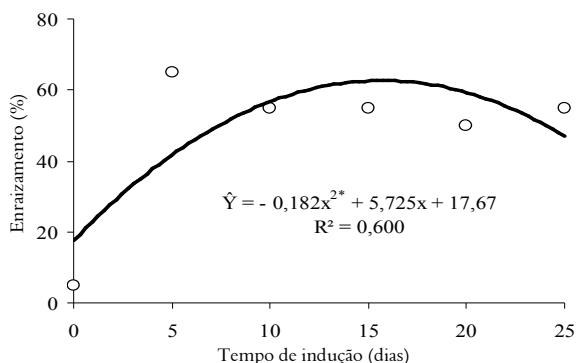


Figura 1. Percentagem de enraizamento de ramos micropropagados de mamoeiro 'Tainung 01' submetidos a diferentes períodos de tempo em meios de indução. O meio de indução continha 0,2 mg L⁻¹ de AIB, enquanto que o de regeneração não continha AIB. Alegre, Estado do Espírito Santo, 2007.

A alternância de meios de indução de raízes e de regeneração, na fase de alongamento, é uma prática utilizada por vários autores na propagação do mamoeiro (DREW et al., 1993; SCHMILDT et al., 1997; YU et al., 2000; McCUBBIN; STADEN, 2003). Schmildt et al. (1997), trabalhando com ápices caulinares de mamoeiro Formosa, pré-tratados por cinco dias em meio de indução contendo 0,2 mg L⁻¹ de AIB e, posteriormente, submetidos aos tratamentos de enraizamento por mais 34 dias, encontraram percentuais de enraizamento semelhantes aos alcançados neste trabalho. Os autores observaram valores percentuais médios de enraizamento de 45, 60 e 50%, respectivamente, no enraizamento *in vitro* dos ramos remanescentes em meio de indução, enraizamento *in vitro* em meio de regeneração (sem AIB) e enraizamento *ex vitro* no cultivo em tubetes contendo o substrato vermiculita. Drew et al. (1993) e McCubbin e Staden (2003) notaram que o melhor enraizamento ocorreu com três dias de indução; para Yu et al. (2000) foi de 14 dias.

O número de raízes também apresentou resposta significativa, de comportamento quadrático, em função do tempo de indução (Figura 2).

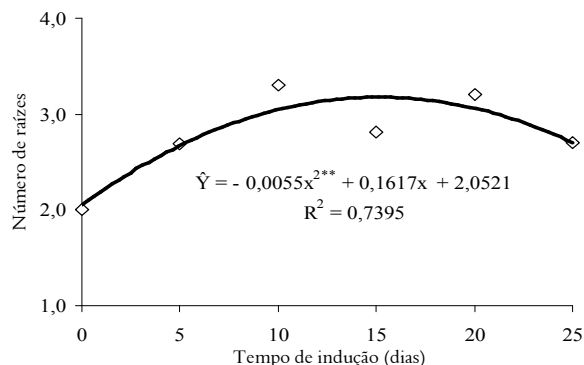


Figura 2. Número de raízes adventícias em ramos micropropagados de mamoeiro 'Tainung 01' submetidos a diferentes períodos de tempo em meios de indução. O meio de indução continha 0,2 mg L⁻¹ de AIB, enquanto que o de regeneração não continha AIB. Alegre, Estado do Espírito Santo, 2007.

O maior valor estimado para o número de raízes (3,2) corresponde ao período de tempo de indução de 14,7 dias. Já o comprimento de raízes não diferiu entre os tempos de permanência dos ramos em meio de indução e regeneração (Figura 3). O comprimento médio das raízes foi de 2,27 cm por ramo, crescimento este considerado ótimo.

Segundo Reuveni et al. (1990), o enraizamento pode ser considerado como ótimo quando apresenta quantidade superior a quatro raízes por planta e comprimento mínimo de 1 cm, sugerindo que brotos com raízes muito curtas ou com menor

número de raízes não se desenvolviam bem e, por fim, deterioravam-se.

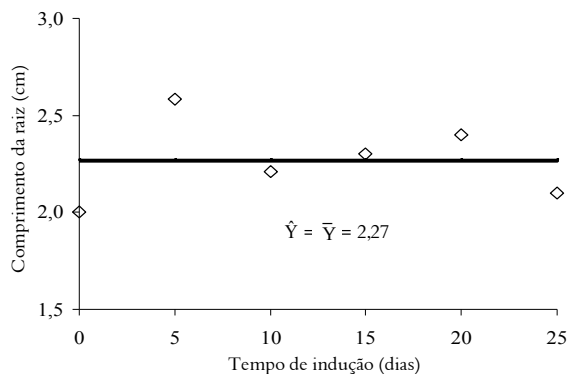


Figura 3. Comprimento médio das raízes de ramos micropropagados de mamoeiro 'Tainung 01' submetidos a diferentes períodos de tempo em meios de indução. O meio de indução continha $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ de AIB, enquanto que o de regeneração não continha AIB. Alegre, Estado do Espírito Santo, 2007.

Schmidt et al. (1997), trabalhando com ápices caulinares de mamoeiro 'Formosa', pré-tratados *in vitro* com $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ de AIB, por cinco dias, verificaram que as raízes dos ramos que permaneceram *in vitro* durante 39 dias de enraizamento, tanto dos ramos remanescentes em meio de indução quanto daqueles transferidos para o meio de regeneração (sem AIB), apresentaram comprimento médio de 2 cm e número de raízes por ramos de 1,35 e 2,25, respectivamente.

Pela evolução do enraizamento (Figura 4), observa-se que, até 15 dias, houve apenas 13% de ramos enraizados nos tratamentos 10/15 e 15/10, assim como somente 30% nos tratamentos 20/5 e 25/0, havendo um ligeiro aumento no enraizamento após 15 dias. Estes resultados indicam que o AIB a $0,2 \text{ mg L}^{-1}$, contido nos referidos meios, exerceu efeito inibitório no surgimento de raízes, e que, após o recultivo dos ramos para o meio desprovido de AIB (meio de regeneração), houve acréscimo bem acentuado do enraizamento. Nota-se que é exatamente com aproximados 15 dias em meio de indução que houve maior percentual de enraizamento (Figura 1). Esse efeito inibitório no surgimento das raízes também pode ser entendido para os ramos que permaneceram por apenas cinco dias em meio de indução (5/20); nestes, aos 15 dias, já havia cerca de 60% de enraizamento, motivado pela presença dos ramos em meio desprovido de AIB partir do sexto dia. No tratamento cujos ramos não foram dispostos em meio de indução (0/25), não houve enraizamento até os 15 dias e observou-se baixo enraizamento após este período. Os resultados alcançados neste trabalho estão de acordo com Rocha et al. (2008), os quais trabalhando com jenipapeiro, concluíram que a adição do AIB ao meio de cultura foi essencial para indução

do enraizamento: os autores constataram que na ausência de AIB no meio de enraizamento não proporcionou a formação de raízes, indicando que para a espécie em estudo o AIB foi efetivo na promoção do enraizamento. Em contraste, em explantes de amoreira-preta Radmann et al. (2003) observaram que os níveis de AIB não influenciaram a percentagem de enraizamento, e na ausência de AIB houve incrementos no número e comprimento das raízes.

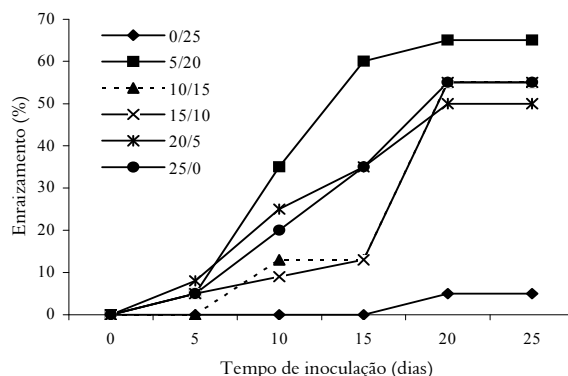


Figura 4. Evolução do enraizamento de ramos micropropagados de mamoeiro 'Tainung 01' submetidos a diferentes períodos de tempo em meios de indução e de regeneração (indução/regeneração). O meio de indução continha $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ de AIB, enquanto que o de regeneração não continha AIB. Alegre, Estado do Espírito Santo, 2007.

Essas variações na evolução do enraizamento dos ramos submetidos a diferentes períodos de tempos de indução/regeneração estão associadas, de algum modo, aos níveis de auxinas livres nas células, cujos mecanismos reguladores envolvem o transporte, a conjugação, a compartimentalização, a oxidação e a biossíntese (KERBAUY, 2004; TAIZ; ZEIGER, 2004). As reações que causam redução dos níveis de auxina podem contribuir para o crescimento das raízes, pela diminuição da síntese de etileno, um inibidor do crescimento radicular (TAIZ; ZEIGER, 2004). Em solução aquosa, a auxina é degradada pela luz visível, embora o AIB seja levemente foto-oxidado nessas condições (QADDOURY; AMSSA, 2004). Nos tecidos vegetais, as auxinas naturais são inativadas concomitantemente ou logo após sua ação promotora do crescimento (TAIZ; ZEIGER, 2004). Essa degradação das auxinas naturais pode ocorrer por reações de descarboxilação oxidativa catalisadas por enzimas do tipo peroxidases, também denominadas AIA-oxidases, ou principalmente por oxidação do anel indólico, isto é, sem descarboxilação (KERBAUY, 2004). Qaddoury e Amssa (2004) notaram incremento na atividade das peroxidases e AIA-oxidases entre 12 e 14 dias durante a rizogênese de rebentos laterais de tamareira, na presença de AIB. Todavia, o significado fisiológico da oxidação das auxinas pela via das

peroxidases é duvidoso, pois, em mutantes transgênicos com expressão da atividade das peroxidases diminuída dez vezes ou aumentada dez vezes, não foram constatadas alterações nos níveis de AIA (TAIZ; ZEIGER, 2004).

O alongamento dos ramos também foi influenciado pela presença de AIB contido no meio de indução (Figura 5). Os ramos cultivados somente no meio de regeneração (indução/regeneração = 0/25 dias) cresceram pouco (0,40 cm). O maior crescimento dos ramos (1,2 cm) foi estimado para o tempo de indução aproximado de 14,6 dias. A partir de então, o alongamento decresce, mas em taxas superiores à dos ramos que não passaram pela fase de indução. Esse crescimento diferenciado ocorrido nos ramos que passaram pela fase de indução, cujo meio continha AIB, foi, em grande parte, pelo alongamento celular, em virtude da capacidade desse hormônio em promover a extensão da parede celular (KERBAUY, 2004; TAIZ; ZEIGER, 2004). Makunga e Staden (2008) verificaram aumentos no comprimento de ramos de salvia submetidos ao enraizamento em meio de indução contendo AIB.

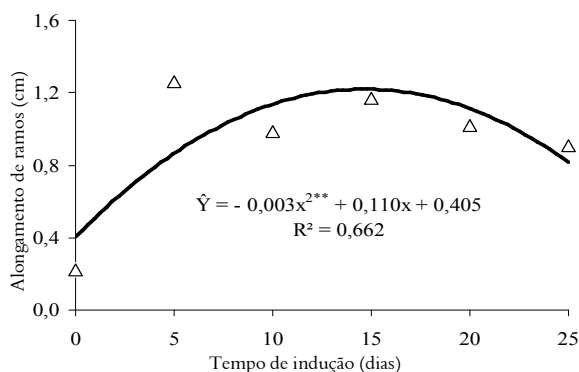


Figura 5. Incremento no alongamento de ramos micropropagados de mamoeiro 'Tainung 01' submetidos a diferentes períodos de tempo em meios de indução. O meio de indução continha 0,2 mg L⁻¹ de AIB, enquanto que o de regeneração não continha AIB. Alegre, Estado do Espírito Santo, 2007.

O comprimento da maior folha dos ramos também foi influenciado pelo período de tempo de permanência nos meios de indução e/ou regeneração, apresentando resposta de comportamento quadrático em função do tempo de indução (Figura 6). O crescimento da maior folha foi superior nos ramos submetidos ao meio de indução, que continha AIB, em relação aos ramos que permaneceram durante todo o tempo experimental no meio de regeneração, na ausência de AIB. O maior comprimento estimado da maior folha (1,6 cm) ocorreu aos 16,5 dias de permanência dos ramos no meio de indução. Schmidt et al. (1997) não notaram diferenças significativas no

comprimento da maior folha quando os ramos de mamoeiro Formosa permaneceram por cinco ou 39 dias em meio de indução *in vitro*.

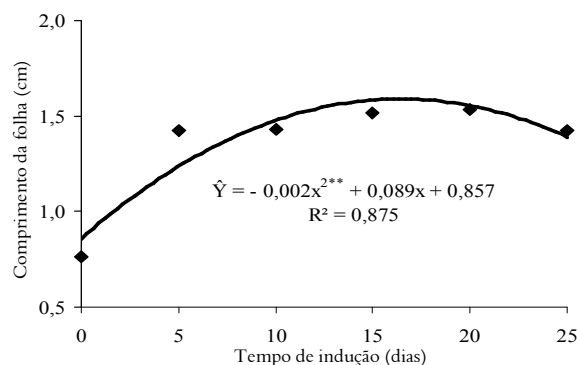


Figura 6. Comprimento da maior folha de ramos micropropagados de mamoeiro 'Tainung 01' submetidos a diferentes períodos de tempo em meios de indução. O meio de indução continha 0,2 mg L⁻¹ de AIB, enquanto que o de regeneração não continha AIB. Alegre, Estado do Espírito Santo, 2007.

Deve-se destacar que o nível de AIB (0,2 mg L⁻¹), contido no meio de indução, proporcionou tanto bom crescimento da parte aérea (Figuras 5 e 6) quanto do sistema radicular (Figuras 1, 2, 3 e 4). Embora as raízes primárias possam necessitar de pequena concentração de auxina para crescer, o crescimento da raiz primária é inibido por concentrações de auxina que promovem o alongamento do caule; a iniciação de raízes laterais (ramificações) e adventícias, porém, é estimulada por níveis mais altos de auxina (TAIZ; ZEIGER, 2004), o que justificaria os resultados alcançados neste trabalho. Também, dependendo da espécie, podem ocorrer respostas diferenciadas à auxina. Em amoreira-preta a ausência de AIB favoreceu o número e alongamento das raízes (RADMANN et al., 2003), condição que estimula o crescimento *in vitro* da parte aérea (GEORGE et al., 2008).

Conclusão

A presença de AIB em meio de enraizamento *in vitro* é essencial para obtenção de padrão aceitável de ramos enraizados de mamoeiro 'Tainung 01'.

Os melhores padrões de ramos de mamoeiro 'Tainung 01' enraizados são obtidos em meio de indução contendo 0,2 mg L⁻¹ de AIB, por um período de 15 a 16 dias, seguido de cultivo em meio desprovido de AIB.

Referências

- AGNIHOTRI, S.; SINGH, S. K.; JAIN, M.; SHARMA, M.; SHARMA, A. K.; CHATURVEDI, H. C. *In vitro* cloning of female and male *Carica papaya* through tips of shoots and inflorescences. **Indian Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 2, p. 235-240, 2004.

- CATUNDA, P. H. A.; MARINHO, C. S.; GOMES, M. M. A.; CARVALHO, A. J. C. de. Brassinosteróide e substratos na aclimação do abacaxizeiro 'Imperial'. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 3, p. 345-352, 2008.
- COSTA, A. F. S.; COSTA, A. N.; SANTOS, F. A. M.; BARRETO, F. C.; ZUFFO, V. J. Plantio, formação e manejo da cultura. In: MARTINS, D. S.; COSTA, A. F. S. (Ed.). **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória: Incaper, 2003. p. 127-159.
- DREW, R. A.; MCCOMB, J. A.; CONSIDINE, J. A. Rhizogenesis and root growth of *Carica papaya* L. in vitro in relation to auxine sensitive phase and use of riboflavin. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 33, n. 1, p. 1-7, 1993.
- EUCLYDES, R. F. Sistema para análises estatísticas (SAEG 9.0). Viçosa: Funarbe, 2004.
- GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; DE KLERK, G. J. **Plant propagation by tissue culture: volume 1. the background**. 3rd ed. Dordrecht: Springer, 2008.
- HOFFMANN, A.; CHALFUN, N. N. J.; VIEIRA, S. S. N. Substratos na indução e desenvolvimento in vitro de raízes em dois porta-enxertos de macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 11, p. 1371-1379, 2001.
- KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- MAKUNGA, N. P.; STADEN, J. V. An efficient system for the production of clonal plantlets of the medicinally important aromatic plant: *Salvia africana-lutea* L. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 92, n. 1, p. 63-72, 2008.
- MCCUBBIN, M. J.; STADEN, J. A modified for *in vitro* propagation of papaya (*Carica papaya* L.). **South African Journal of Botany**, v. 69, n. 3, p. 287-291, 2003.
- MEIRA, Z. Developmental and structural patterns of in vitro plants. In: SOH, W. Y.; BHOJWANI, S. S. (Ed.). **Morphogenesis in plant tissue cultures**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1999. p. 235-254.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- NAND, N.; DREW, R. A.; ASHMORE, S. Micropropagation of two Australian native fruit species, *Davidsonia pruriens* and *Davidsonia jerseyana* G. Harden & J. B. Williams. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 77, n. 2, p. 193-201, 2004.
- NOMURA, E. S.; LIMA, J. D.; GARCIA, V. A.; RODRIGUES, D. S. Crescimento de mudas micropropagadas da bananeira cv. Nanicão, em diferentes substratos e fontes de fertilizantes. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 3, p. 359-363, 2008.
- QADDOURY, A.; AMSSA, M. Effect of exogenous indole butyric acid on root formation and peroxidase and indole-3-acetic acid oxidase activities and phenolic contents in date Palm offshoots. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 45, n. 2, p. 127-131, 2004.
- RADMANN, E. B.; GONCALVES, E. D.; FORTES, G. R. de L. Concentrações de ácido indolbutírico e períodos de escuro, no enraizamento "in vitro" de amoreira-preta (*Rubus* sp.), cv. ébano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 1, p. 124-126, 2003.
- REUVENI, O.; SHLESINGER, D. R.; LAVI, U. *In vitro* clonal propagation of dioecious *Carica papaya*. **Plant Cell Tissue, and Organ Culture**, v. 20, n. 1, p. 41-46, 1990.
- ROCHA, M. A. C.; COSTA, M. A. P. C.; SILVA, S. A.; LEDO, C. A. S.; MOREIRA, M. J. S.; BASTOS, L. P. Enraizamento *in vitro* e aclimatização de genótipos de jenipapeiro (*Genipa americana* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 3, p. 769-774, 2008.
- SCHMILDT, E. R.; TEIXEIRA, S. L.; CRUZ, C. D.; COUTO, F. A. D.; LANI, E. R. G. Enraizamento de ramos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) obtidos por cultivo *in vitro* de ápices caulinares. **Revista Ceres**, v. 44, n. 253, p. 339-345, 1997.
- SCHMILDT, E. R.; AMARAL, J. A. T.; SCHMILDT, O. Sacarose na fase de enraizamento *in vitro* de mamoeiro 'Tainung 01'. **Scientia Agraria**, v. 8, n. 1, p. 25-30, 2007.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.
- TEIXEIRA, M. T.; TEIXEIRA, S. L. Estabelecimento de segmentos apicais de mamoeiro *in vitro*. **Revista Ceres**, v. 51, n. 296, p. 477-483, 2004.
- TEO, C. K. H.; CHAN, L. K. The effects of agar content, nutrient concentration, genotype and light intensity on the *in vitro* rooting of papaya microcuttings. **The Journal of Horticultural Science**, v. 69, n. 2, p. 267-73, 1994.
- VILLA, F.; PASQUAL, M.; ASSIS, F. A.; PIO, L. A. L.; ASSIS, G. A. Crescimento *in vitro* de amoreira-preta: efeito de reguladores de crescimento e da cultivar. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 6, p. 1754-1759, 2008.
- YU, T. A.; YE, S. D.; CHENG, Y. H.; YANG, J. S. Efficient rooting for establishment of papaya plantlets by micropropagation. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 29, n. 1, p. 29-35, 2000.

Received on February 18, 2008.

Accepted on June 16, 2008.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.