

# INFLUÊNCIA DE REGULADORES DE CRESCIMENTO E EXTRATOS VEGETAIS NA RESPOSTA MORFOGENÉTICA DE CALOS DE *Solanum sessiliflorum* DUNAL

Jean Carlos Fernando Besson\*  
Lana Karina Oliveira\*\*  
Francilaine Cavalini\*\*\*  
Walkyria Neiverth\*\*\*\*  
Andréa Florindo das Neves\*\*\*\*\*  
Suzana Stefanello\*\*\*\*\*

**RESUMO:** O cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) é uma solanácea nativa da região amazônica que vem despertando interesse de pesquisadores devido ao potencial agroindustrial de seus frutos. Contudo, suas sementes perdem a viabilidade rapidamente. Assim, torna-se fundamental o desenvolvimento de estratégias alternativas, que tenham como propósito a propagação clonal em larga escala de plantas para atender a demanda da produção agroindustrial. Este trabalho teve como objetivo verificar a influência de reguladores de crescimento e extratos vegetais na morfogênese *in vitro* de *S. sessiliflorum*, buscando estabelecer um protocolo futuro de embriogênese somática para a espécie. Foram utilizados como explantes calos formados sobre hipocótilos e cultivados em meio de cultura MS, suplementado com 10 mg L<sup>-1</sup> de ANA (Ácido naftalenoacético) e 1 mg L<sup>-1</sup> de ZEA (Zeatina), sacarose (30 g L<sup>-1</sup>) e ágar (6,5 g L<sup>-1</sup>), os quais foram inoculados em frascos contendo meio de cultura MS e submetidos aos seguintes tratamentos: ausência de reguladores, suplementação com ANA (10 mg L<sup>-1</sup>) e ZEA (1 mg L<sup>-1</sup>), suplementação com 300 mg L<sup>-1</sup> e 600 mg L<sup>-1</sup> de extrato aquoso de *Jasminum mesnyi* Hance

---

\* Biólogo graduado pela Universidade Paranaense - UNIPAR. E-mail: jeanbesson\_biologo@hotmail.com

\*\* Bióloga graduada pela Universidade Paranaense – UNIPAR. E-mail: lana\_809@hotmail.com

\*\*\* Bióloga graduada pela Universidade Paranaense – UNIPAR. E-mail: francavalini@hotmail.com

\*\*\*\* Bióloga graduada pela Universidade Paranaense – UNIPAR. E-mail: walkybio@yahoo.com.br

\*\*\*\*\* Discente do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Paranaense – UNIPAR. E-mail: deiafn\_16@hotmail.com

\*\*\*\*\* Doutora em Genética e Melhoramento; Docente da Universidade Federal do Paraná – UFPR. E-mail: sstefanello@ufpr.br

autoclavado e também filtroesterilizado. Após 35 e 70 dias de cultivo avaliou-se a massa fresca, o aspecto e a textura dos calos. A suplementação do meio de cultura com ANA ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ) e ZEA ( $1 \text{ mg L}^{-1}$ ) permitiu o maior acúmulo de biomassa, promovendo o crescimento de calos. Quando avaliou-se o efeito dos extratos autoclavados e filtroesterilizados, observou-se que o crescimento dos calos foi maior nas concentrações mais elevadas ( $600 \text{ mg L}^{-1}$ ). Apesar do aspecto friável dos calos formados, não ocorreu indução da rota embriogênética.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Solanum sessiliflorum* Dunal; Calogênese; Substâncias Reguladoras de Crescimento; Cultivo *in vitro*; *Jasminum mesnyi* Hance.

## INFLUENCE OF GROWTH REGULATORS AND PLANT EXTRACTS ON THE MORPHOGENETIC RESPONSE OF CALLI OF *Solanum sessiliflorum* DUNAL

**ABSTRACT:** The cubiu plant (*Solanum sessiliflorum* Dunal) is a solanaceous plant native to the Amazon region. It has drawn increased interest from researchers due to the fruit's agro-industrial potential. Since the seeds lose their viability quickly, the development of alternative strategies such as large-scale clonal propagation of plants to meet the demand of agro-industrial production is on the demand. Current analysis investigates the influence of growth regulators and plant extracts on the *in vitro* morphogenesis of *S. sessiliflorum* to establish a protocol for the species's somatic embryogenesis. Hypocotyl-derived calli were obtained on MS medium supplemented with  $10 \text{ mg L}^{-1}$  NAA (Naphthalene acetic acid) and  $1 \text{ mg L}^{-1}$ , ZEA (Zéatin), sucrose ( $30 \text{ g L}^{-1}$ ) and agar ( $6.5 \text{ g L}^{-1}$ ). These calli were then inoculated in flasks containing MS medium and undergoing the following treatments: lack of growth regulators, supplemented with NAA ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ) and ZEA ( $1 \text{ mg L}^{-1}$ ), supplemented with  $300 \text{ mg L}^{-1}$  and  $600 \text{ mg L}^{-1}$  of aqueous extract of *Jasminum mesnyi* Hance, autoclaved and also filter sterilized. Calli's fresh mass, appearance and texture were evaluated after 35 and 70 days of culture. Addition of NAA ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ) and ZEA ( $1 \text{ mg L}^{-1}$ ) to the culture medium caused a higher biomass accumulation and

promoted callus growth. The evaluation of the effect of autoclaved and filter sterilized extracts showed that callus growth was greater at higher concentrations ( $600 \text{ mg L}^{-1}$ ). Despite the friable appearance of the formed calli, the embryogenetic route was not inducted.

**KEYWORDS:** *Solanum sessiliflorum* Dunal; Calogenesis; Growth Regulating Substances; *In Vitro* Culture; *Jasminum mesnyi* Hance.

## INTRODUÇÃO

A flora Amazônica é detentora da maior biodiversidade do mundo, rica em espécies com grande potencial econômico e medicinal. Dentre as várias espécies encontradas com grande potencial está *Solanum sessiliflorum* Dunal, também conhecida como cubiu. A planta é uma Solanácea arbustiva, amplamente distribuída na região equatorial úmida brasileira, peruana e colombiana. Sob o ponto de vista econômico, o cubiu é considerado importante matéria-prima para a agroindústria moderna dada a sua rusticidade e alta produção de frutos, e também por reunir características requisitadas nos mercados nacional e internacional principalmente na indústria cosmética, alimentícia e farmacêutica (SILVA FILHO et al., 1996).

Apesar de ser de fácil cultivo no seu ambiente de origem, a germinação é desuniforme e as sementes perdem sua viabilidade com extrema rapidez (SILVA FILHO et al., 2005). Com a necessidade de suprir a demanda comercial e a intensa degradação dos ambientes naturais, a técnica de cultura de tecidos tornou-se importante instrumento visando à conservação e multiplicação de plantas. Essa ferramenta biotecnológica possibilita a propagação de plantas livres de patógenos e acelera os métodos convencionais de propagação vegetativa, permitindo a produção de mudas de alto padrão e quantidade suficiente para suprir a demanda comercial em qualquer época do ano (SCHIAVINATO et al., 2008).

A formação de novos órgãos *in vitro* (morfogênese) resulta da interação dos processos de competência, indução, determinação e diferenciação celular, os quais são influenciados e determinados principalmente pela presença de reguladores de crescimento que agem com sinais químicos para regular os processos de crescimento e morfogênese (COENEM; LOMAX, 1997).

Os reguladores de crescimento são substâncias sintéticas que possuem ação similar aos fitoreguladores e que atuam em baixas concentrações em vários processos de desenvolvimento. Dentre os principais reguladores de crescimento estão as auxinas e as citocininas (TAIZ; ZEIGER, 2004). Segundo Wang e co-

laboradores (2008), as auxinas como o Ácido naftalenoacético (ANA) ao serem adicionadas no meio de cultura podem induzir a formação de calos e proliferação celular, e as citocininas como a Zeatina (ZEA) podem induzir a rediferenciação em calos na presença de auxinas.

Os vegetais produzem uma grande variedade de compostos orgânicos, classificados como metabólitos primários e secundários, e dentre esses metabólitos, encontra-se o ácido jasmônico, o qual é considerado uma nova classe de regulador de crescimento vegetal envolvido nos processos de sinalização e defesa contra lesões mecânicas ou herbivoria. Sua síntese tem sido relatada em espécies do gênero *Jasminum* e *Rosmarinus*. O ácido jasmônico pertence a um grupo de ácidos graxos bioativos denominados oxipilinas, os quais estão envolvidos em diversos processos de desenvolvimento e presentes em quase todo reino vegetal (TOFFANO, 2005; CAMPOS, 2009).

De modo geral, a elevação dos níveis de ácido jasmônico na planta está relacionada com a ativação de genes que codificam as enzimas da sua própria biossíntese e de genes de resposta de defesa (LITHOLDO JR; LEAL JR; FIGUEIRA, 2008). Segundo Ravnikar, Vilhar e Gogala (1992), a adição de ácido jasmônico ao meio de cultura favoreceu o aumento significativo do comprimento das plantas, resultou em um sistema radicular muito bem diferenciado e induziu a formação de calos na cultura de protoplastos de batata (*Solanum tuberosum*).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de reguladores de crescimento (ANA e ZEA) e extratos vegetais obtidos de *Jasminum mesnyi* nas respostas morfogênicas *in vitro* de *Solanum sessiliflorum* Dunal, buscando estabelecer um protocolo de embriogênese somática para a espécie.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia e de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Paranaense *Campus* Toledo, no período de março a setembro de 2009.

Foram instalados dois experimentos. No primeiro, que teve como finalidade avaliar o efeito de reguladores de crescimento na indução de calos, foram utilizados como explantes hipocótilos excisados de plântulas com 20 dias de cultivo, obtidas de sementes de *S. sessiliflorum* da variedade Santa Luzia germinadas *in vitro*. O meio de cultura de germinação foi o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) com metade da concentração de sais, acrescido de sacarose (30 g L<sup>-1</sup>) e agar (6,5 g L<sup>-1</sup>), com pH ajustado para 5,8. Os segmentos de hipocótilos (1 cm) utilizados como explantes foram inoculados, em posição horizontal, em placas de Petri (100 x 15

mm) contendo 20 mL de meio de cultura basal MS suplementado com sacarose (30 g L<sup>-1</sup>), agar (6,5 g L<sup>-1</sup>) e diferentes combinações de ANA (0; 2,5; 5 e 10 mg L<sup>-1</sup>) e Zeatina (0; 1 e 2 mg L<sup>-1</sup>).

As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2 °C, na ausência de luz. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, contendo 12 tratamentos (quatro concentrações de ANA e três de ZEA) com quatro repetições. A unidade experimental consistiu de uma placa de Petri com 10 explantes, totalizando 40 explantes por tratamento.

Após 30 dias de cultivo *in vitro*, foi realizada a avaliação da percentagem de explantes com indução de calos, aspecto dos calos (textura e coloração), formação de raízes, brotos e embriões.

Posteriormente, os calos formados sobre os segmentos de hipocótilos e cultivados com 10 mg L<sup>-1</sup> de ANA e 1 mg L<sup>-1</sup> de ZEA na ausência de luz foram utilizados como explantes para a instalação de outro experimento. Os mesmos foram inoculados em frascos contendo meio de cultura basal MS, testando-se as seguintes condições: ausência de reguladores (T1), suplementação com ANA (10 mg L<sup>-1</sup>) combinado com ZEA (1 mg L<sup>-1</sup>) (T2), suplementação com 300 mg L<sup>-1</sup> (T3) e 600 mg L<sup>-1</sup> (T4) de extrato aquoso de *Jasminum mesnyi* autoclavado e suplementação com 300 mg L<sup>-1</sup> (T5) e 600 mg L<sup>-1</sup> (T6) de extrato aquoso de *J. mesnyi* filtroesterilizado. Os calos foram mantidos na ausência de luz sob uma temperatura de 25 ± 2°C.

Após 35 e 70 dias de cultivo avaliaram-se características dos calos como massa fresca, aspecto e textura. Após o primeiro subcultivo realizado aos 35 dias, foi realizada a avaliação citoquímica dos calos, utilizando a dupla coloração com azul de Evans e carmim acético. Para a realização dos testes citoquímicos, fragmentos dos calos foram corados utilizando a dupla coloração com azul de Evans (0,1%) e carmim acético (2%) (DURZAN, 1988). Em microscópio óptico, as células coradas foram observadas, identificando-se os aspectos relevantes e realizando o registro fotográfico.

Para o preparo do extrato aquoso de *J. mesnyi*, seguiu-se a metodologia proposta por Alves e colaboradores (2007) com modificações. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo a unidade experimental constituída por um frasco com cinco massas calosas com aproximadamente 200 mg.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 30 dias da instalação do primeiro experimento, foi possível observar

que o maior percentual de calos (70%) foi obtido com o cultivo dos hipocótilos na presença de 10 mg L<sup>-1</sup> de ANA e 1 mg L<sup>-1</sup> de ZEA, seguido do tratamento com 2,5 mg L<sup>-1</sup> de ANA (57,5%) e do tratamento com 10 mg L<sup>-1</sup> de ANA e 1 mg L<sup>-1</sup> de ZEA (55%). Constatou-se que a suplementação do meio de cultura com ANA foi essencial para a formação de calos, visto que na ausência de reguladores e nos meios de cultura com a presença apenas de ZEA não ocorreu a formação de calos (Tabela 1).

**Tabela 1** Percentual médio de calos, raízes e brotos formados sobre hipocótilos inoculados em meio de cultura MS suplementado com ANA (0; 2,5; 5 e 10 mg L<sup>-1</sup>) e Zeatina (0; 1 e 2 mg L<sup>-1</sup>) após 30 dias de cultivo *in vitro*

ANA (mg L <sup>-1</sup> )	ZEA (mg L <sup>-1</sup> )	Calos (%)	Raízes (%)	Brotos (%)
0	0	0	62,5	62,5
2,5	0	57,5	65	2,5
5	0	37,5	62,5	0
10	0	42,5	32,5	0
0	1	0	30	40
2,5	1	47,5	27,5	0
5	1	37,5	37,5	0
10	1	70	52,5	30
0	2	0	15	37,5
2,5	2	32,5	67,5	0
5	2	37,5	42,5	0
10	2	55	37,5	0

O maior percentual de raízes (67,5%) foi obtido na presença de 2,5 mg L<sup>-1</sup> de ANA combinado com 2 mg L<sup>-1</sup> de ZEA, seguido do tratamento com 2,5 mg L<sup>-1</sup> de ANA (65%) e do tratamento com ausência de ANA (62,5%) e 5 mg L<sup>-1</sup> de ANA (62,5%). A maior indução de brotos (62,5%) ocorreu na ausência de reguladores de crescimento, o que corrobora com os resultados obtidos por Muangkaew e Chato (1992) quando cultivaram glóxinia *in vitro* na ausência de fitoreguladores. O cultivo dos segmentos de hipocótilo na presença de 1 e 2 mg L<sup>-1</sup> de ZEA também levaram a um elevado percentual de brotos (40 e 37,5 %, respectivamente). Sabe-se que as citocininas como o ZEA são essenciais para a formação de parte aérea e para o crescimento de brotos no meio de cultura (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Apesar dos efeitos dos reguladores na

indução de calogênese, não ocorreu formação de embriões no período de 30 dias de cultivo *in vitro*.

Na avaliação realizada aos 35 dias após a inoculação, observou-se que os calos cultivados apresentaram aumento na massa fresca, porém, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos. O maior aumento de massa fresca (Tabela 2) ocorreu, contudo, nos tratamentos contendo 600 mg L<sup>-1</sup> (509 mg) de extrato aquoso de *J. mesnyi* autoclavado e com o tratamento contendo ANA (10 mg L<sup>-1</sup>) e ZEA (1 mg L<sup>-1</sup>) (535mg).

**Tabela 2** Valores médios para a massa fresca (miligramas) de calos de *S. sessiliflorum* Dunal inoculados em meio de cultura MS contendo extratos aquosos de *J. mesnyi* e fitorreguladores, após 35 e 70 dias de cultivo *in vitro*

Extrato/Fitorregulador	35 dias (mg)	70 dias (mg)
Ausência	434 Ab	544 Aa
10 mg L <sup>-1</sup> ANA + 1 mg L <sup>-1</sup> ZEA	509 Ab	2503 Ba
Extrato autoclavado (300 mg L <sup>-1</sup> )	486 Aa	288 Ab
Extrato autoclavado (600 mg L <sup>-1</sup> )	535 Ab	722 Aa
Extrato filtroesterilizado (300 mg L <sup>-1</sup> )	396 Ab	528 Aa
Extrato filtroesterilizado (600 mg L <sup>-1</sup> )	384 Ab	853 Aa
CV (%)	34,68	54,13

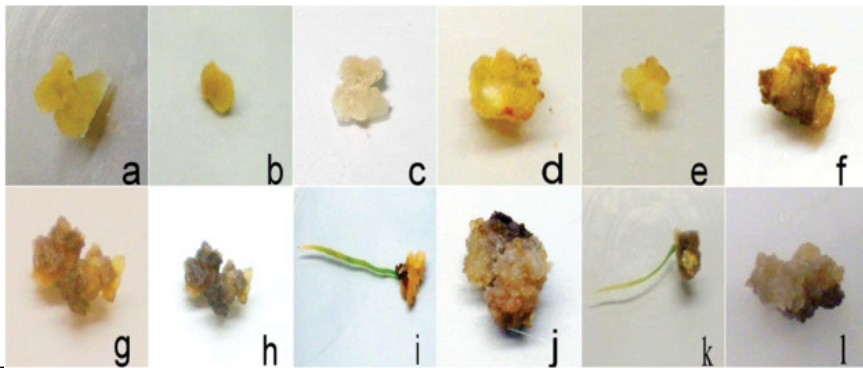
Médias seguidas da mesma letra maiúscula, na coluna e minúscula, na linha, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

CV = Coeficiente de variação.

Por outro lado, após 70 dias de cultivo foi encontrada diferença significativa entre os tratamentos com relação ao acúmulo de biomassa. As melhores respostas quanto à massa fresca dos calos foram observadas no tratamento contendo ANA (10 mg L<sup>-1</sup>) e ZEA (1 mg L<sup>-1</sup>) (2503 mg). Os demais tratamentos não diferiram entre si apesar do desempenho inferior observado no tratamento contendo extrato aquoso de *J. mesnyi* autoclavado e suplementação com 300 mg L<sup>-1</sup> (Tabela 2). Calos cultivados em meio de cultura suplementado com 600 mg L<sup>-1</sup> de extrato aquoso de *J. mesnyi* tanto autoclavado quanto filtroesterilizado apresentaram incremento de biomassa similares, entretanto superiores aos cultivados em 300 mg L<sup>-1</sup> de extrato aquoso autoclavado e filtroesterilizado.

Após 35 dias de cultivo *in vitro*, dois tipos de calos foram encontrados em todos os tratamentos: um friável branco-amarelado (predominante) e outro com-

pacto com as mesmas características do anterior (Figura 1). Observou-se também a formação de raízes sobre os calos cultivados na presença de 300 mg L<sup>-1</sup> de extrato de *J. mesnyi* filtroesterilizado. No entanto, depois de 70 dias de cultivo *in vitro*, a maior parte dos calos analisados tornaram-se compactos, exceto para os cultivados na ausência de reguladores de crescimento e na presença de ANA (10 mg L<sup>-1</sup>) e ZEA (1 mg L<sup>-1</sup>). Ocorreu alteração na coloração dos calos em quase todos os tratamentos. Os calos passaram de branco-amarelados a escuros, exceto nos tratamentos contendo ANA (10 mg L<sup>-1</sup>) e ZEA (1 mg L<sup>-1</sup>) e em 600 mg L<sup>-1</sup> de extrato de *J. mesnyi* filtroesterilizado (Figura 1).



**Figura 1** Respostas morfológicas (calos) de *S. sessiliflorum*: a) Tratamento controle (35 dias); b) Tratamento controle (70 dias); c) ANA (10 mg L<sup>-1</sup>) e ZEA (1 mg L<sup>-1</sup>) (35 dias); d) ANA (10 mg L<sup>-1</sup>) e ZEA (1 mg L<sup>-1</sup>) (70 dias); e) 300 mg L<sup>-1</sup> de extrato de *J. mesnyi* autoclavado (35 dias); f) 300 mg L<sup>-1</sup> de extrato autoclavado (70 dias); g) 600 mg L<sup>-1</sup> de extrato autoclavado (35 dias); h) 600 mg L<sup>-1</sup> de extrato autoclavado (70 dias); i) calo e raiz formados com 300 mg L<sup>-1</sup> de extrato filtroesterilizado (35 dias); j) 300 mg L<sup>-1</sup> de extrato filtroesterilizado (70 dias); k) calo e raiz formados com 600 mg L<sup>-1</sup> de extrato filtroesterilizado (35 dias) e l) 300 mg L<sup>-1</sup> de extrato filtroesterilizado (70 dias). Aumento 100x.

Stefanello (2008) observou que o percentual médio de indução de calos de cubiu variou em função das concentrações de auxina e citocinina (KIN e ANA) testadas em explantes cotiledonares. Com o aumento das concentrações de ANA (0; 2,5; 5,0 e 10 mg L<sup>-1</sup>) e na ausência de KIN, ocorreu diminuição da proliferação de calos. O inverso foi constatado na presença de 1 mg L<sup>-1</sup> de KIN no qual foi observado aumento na proporção de calos formados. Isso revela que a presença de KIN, que é uma citocinina, exerce influência no crescimento e multiplicação celular dos calos. Segundo Jiménez (2005), na maior parte das espécies estudadas, em que a adição de reguladores é necessária para induzir a embriogênese somática, auxinas e citocininas têm sido essenciais na indução de



respostas embriogênicas, provavelmente porque elas participam na regulação do ciclo e da divisão celular.

A avaliação citoquímica dos calos de aspecto filamentosos do tratamento na ausência de reguladores revelou que os mesmos eram constituídos por células predominantemente alongadas, com citoplasma pouco denso, sem reação com o carmim acético, não evidenciando a presença de estruturas globulares pró-embriogênicas típicas de culturas embriogênicas. O mesmo foi observado com as células cultivadas na presença de ANA e ZEA, apesar do maior crescimento ou ganho de biomassa apresentado pelas mesmas. Segundo Cid (1992), estas culturas filamentosas podem ser constituídas por elementos diferenciados como fibras e esclerêdeos, indicando que estas porções dos calos não se desdiferenciaram e, por isso, não são embriogênicas. Estruturas similares foram observadas em culturas de inflorescências jovens de *Cynodon dactylon* que produziram calos não embriogênicos, com aspecto não organizado, não compactado e possuindo células longas e tubulares na sua superfície (CHAUDHURY; QU, 2000).

Os calos friáveis e de textura granulosa formados em todos os tratamentos apresentaram células pequenas, isodiamétricas, as quais reagiram com o carmim acético que, de acordo com Durzan (1988), é um indicativo da presença de glicoproteínas associadas à rota embriogenética. Entretanto, no período de avaliação não foi observada a formação de embriões somáticos sobre os calos. O prolongamento do tempo de cultivo *in vitro* poderia elucidar essa questão.

Apesar dos resultados indicarem superioridade da combinação de ANA e ZEA sobre os tratamentos com extrato de *J. mesnyi*, o ganho de biomassa dos calos cultivados em meio de cultura suplementado com 600 mg L<sup>-1</sup> de extrato com ou sem filtroesterilização foi superior ao observado na ausência de reguladores. Sugere-se que as substâncias presentes no extrato podem influenciar no crescimento de calos de cubiu. Todavia, é possível que ajustes nas concentrações dos extratos possam maximizar o efeito desejado, visto que o ácido jasmônico, substância sintetizada pelas plantas de *J. mesnyi*, ainda é pouco estudado. Blázquez e colaboradores (2004), trabalhando com calos embriogênicos de açafrão (*Crocus sativus*), verificaram que o desenvolvimento de embriões somáticos em meio sólido foi significativamente melhorado com a adição de ácido jasmônico (0,5 mg L<sup>-1</sup>).

Trabalho similar testando o efeito de extratos vegetais sobre o crescimento *in vitro* foi realizado por Alves e colaboradores (2007). Os referidos autores estudaram a influência da adição ao meio de cultura MS de 150 e 300 mg L<sup>-1</sup> de extrato metanólico de *Saintpaulia ionantha* (folhas), *Hibiscus rosa-sinensis* (folhas) e *Bougainvillea spectabilis* (folhas e flores), além da suplementação com BAP (0,5 mg L<sup>-1</sup>) e a ausência de reguladores de crescimento sobre o crescimento *in vitro*

de segmentos nodais provenientes de plântulas de *Rosa x hybrida*. Os resultados indicaram superioridade do tratamento com BAP sobre o desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular, contudo a suplementação dos meios de cultura com extratos vegetais das plantas testadas favoreceu o crescimento levando os autores a concluir que estas substâncias podem influenciar o crescimento *in vitro*.

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A presença de auxina no meio de cultura foi essencial para a formação de calos a partir de hipocótilo de *Solanum sessiliflorum*, assim como de citocinina para a formação de brotos. A suplementação do meio de cultura com ANA (10 mg L<sup>-1</sup>) e ZEA (10 mg L<sup>-1</sup>) permitiu maior ganho de massa dos calos cultivados *in vitro*, contudo não ocorreu indução da rota embriogenética no período avaliado.

#### **REFERÊNCIAS**

ALVES, D. S. et al. Influência de extratos vegetais no desenvolvimento *in vitro* de plântulas de *Rosa x hybrida*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 6, p. 1888-1892, 2007.

BLÁZQUEZ, S. et al. Somatic embryogenesis in saffron: optimization through temporary immersion and polyamine metabolism. **Acta Horticulturae**, v. 650, p. 269-276, 2004.

CAMPOS, M. L. **Controle hormonal da defesa à herbivoria em tomateiro**. 2009. 117p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

CHAUDHURY, A.; QU, R. Somatic embryogenesis and plant regeneration of turf-type bermudagrass: effect of 6-benzyladenine in callus induction medium. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 60, p. 113-120, 2000.

CID, L. P. B. A cultura de células vegetais em meio líquido. **ABCTP Notícias**, v. 18, n. 1, p. 2-7, 1992.

COENEN, C.; LOMAX, T. L. Auxin-cytokinin interactions in higher plants: old problems and new tools. **Trends in Plant Science**, v. 2, p. 351-356, 1997.

DURZAN, D. J. Somatic polyembryogenesis for the multiplication of tree crops. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, v. 6, p. 341-378, 1988.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: EMBRAPA/CBAB, 1998. v. 1. p. 183-260.

JIMÉNEZ, V. M. Involvement of plant hormones and plant growth regulators on *in vitro* somatic embryogenesis. **Plant Growth Regulation**, v. 47, p. 91-110, 2005.

LITHOLDO JR, C. G.; LEAL JR, G. A.; FIGUEIRA, A. Identificação e análise da expressão de genes da via de biosíntese de ácido jasmônico, através da aplicação de indutores em *Theobroma cacao*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 54, 2008, Salvador. **Anais...** Salvador, BA: SBG, 2008. p. 280.

MUANGKAEWN, A.; CHATO, S. *In vitro* micropropagation of gloxinia Kaen Kaset. **Agriculture Journal**, Berlin, v. 20, n. 6, p. 336-342, 1992.

MURASHIGE, T., SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

RAVNIKAR, M.; VILHAR, B.; GOGALA, N.; Stimulatory effects of jasmonic acid on potato stem node and protoplast culture. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 11, p. 29-33, 1992.

SCHIAVINATO, Y. O. et al. Micropropagação de *Anthurium plowmannii* Croat. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v. 4, p. 15-20, 2008.

SILVA FILHO, D. F. et al. Variabilidade genética em populações naturais de cubiu da Amazônia. **Horticultura Brasileira**, v. 14, p. 9-14, 1996.

\_\_\_\_\_ et al. Caracterização e avaliação de potencial agrônomo e nutricional de etnovarietades de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) da Amazônia. **Acta Amazonica**, v. 35, n. 4, p. 399-406, 2005.

STEFANELLO, S. **Fisiologia pós-colheita e propagação *in vitro* de cultivares de *Solanum sessiliflorum* Dunal**. 2008. 117p. Tese (Doutorado em Gené-

tica e Melhoramento) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre, RS: Artmed, 2004.

TOFFANO, L. **Doenças pós-colheita em citros: potencial do *Lentinula edodes*, *Agaricus blazei*, ácido jasmônico, albedo (*Citrus sinensis* var. Valência) e flavedo (*Citrus aurantifolia* var. Tahiti) no controle e na indução de resistência**. 2005. 85p. Tese (Mestrado em Agronomia) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

WANG, W. et al. Simple hormonal regulation of somatic embryogenesis and/or shoot organogenesis in caryopsis cultures of *Pogonatherum panicum* (Poaceae). **Plant Cell**, v. 95, p. 57-67, 2008.

*Recebido em: 21 Abril 2010*

*Aceito em: 16 Julho 2010*