



Revista Agrária Acadêmica

[*Agrarian Academic Journal*](#)

Volume 2 – Número 6 – Nov/Dez (2019)



doi: 10.32406/v2n62019/81-92/agrariacad

Indução de calos em explantes foliares e caulinares de Cumari-do-Pará (*Capsicum chinense* Jacquin)¹. Callus induction from leaf explants and stem nodes of Cumari-do-Pará (*Capsicum chinense* Jacquin)

Mariane Rabelo Coelho Fernandes², Bruno Henrique Gomes^{3*} [ORCID](#), Ana Paula Oliveira Nogueira⁴

¹ Este artigo faz parte do Trabalho de Conclusão de Curso em Biotecnologia da primeira autora

² Bacharel em Biotecnologia/Instituto de Biotecnologia/Universidade Federal de Uberlândia, *campus* Umuarama, Uberlândia – MG, Brasil

^{3*} Biotecnologista e Mestre em Genética e Bioquímica/Instituto de Biotecnologia/Universidade Federal de Uberlândia, *campus* Umuarama, Uberlândia – MG, Brasil – b.hgomes@hotmail.com

⁴ Professora e pesquisadora/Instituto de Biotecnologia/Universidade Federal de Uberlândia, *campus* Umuarama, Uberlândia – MG, Brasil

Resumo

Considerando a importância da produção de espécies de pimentas, as técnicas de cultura de tecidos se tornam importantes para produção de mudas em larga escala e para a produção e exploração de metabólitos secundários com atividades farmacológicas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a indução de calos em tecidos caulinares e foliares de cumari-do-pará (*Capsicum chinense* Jacquin) sob diferentes doses de auxinas e citocininas para determinar as melhores condições para a calogênese *in vitro*. A indução de calos e a área coberta por células de calos em explantes de plântulas de cumari-do-pará foi induzida mediante utilização de ácido 2,4-diclorofenóxiacético e 6-Benzilaminopurina em diferentes concentrações. Observou-se que a porcentagem de indução de calos e a porcentagem de área celular coberta por calos, tanto em explantes caulinares quanto nos foliares, foram maiores quando utiliza-se concentrações de 2,0 mg L⁻¹ e 1,0 mg L⁻¹ de ácido 2,4-diclorofenóxiacético. A maior formação de calos e grande área coberta por calos foram obtidas em segmentos caulinares, quando cultivados em meio de cultura suplementado com a combinação de 2 mg L⁻¹ de ácido 2,4-diclorofenóxiacético + 0 mg L⁻¹ de 6-Benzilaminopurina.

Palavras-chave: *Capsicum*, micropropagação, fito hormônios, cultivo *in vitro*, pimenta

Abstract

Considering the importance of the production of pepper species, tissue culture techniques become important for large-scale seedling production and for the production and exploitation of secondary metabolites with pharmacological activities and as natural herbicides. The aim of this work was to evaluate the induction of calluses from stem nodes and leaf tissues of *Capsicum chinense* Jacquin under different doses of auxins and cytokinins to determine the best conditions for *in vitro* callogenesis. Callus induction and the area covered by callus cells in explants of cumari-do-para was induced using 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 6-Benzylaminopurine in different concentrations. It was observed that the percentage of callus induction and the percentage of callus-covered cell area in both shoot and leaf explants were higher when 2.0 mg L⁻¹ and 1.0 mg L⁻¹ of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. The highest callus formation and large callus area were obtained from stem nodes when grown in culture medium supplemented with the combination of 2 mg L⁻¹ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid + 0 mg L⁻¹ 6-Benzylaminopurine.

Keywords: *Capsicum*, micropropagation, phyto hormones, *in vitro* culture, pepper

Introdução

O gênero *Capsicum* apresenta 33 espécies, sendo que apenas cinco espécies são domesticadas e cultivadas: *Capsicum annuum* L., *Capsicum baccatum* L., *Capsicum chinense* Jacq., *Capsicum frutescens* L. e *Capsicum pubescens* L., esta última não é cultivada no Brasil (COSTA et al., 2015; MENICHINI et al., 2009; DUTRA et al., 2010). As espécies deste gênero possuem grande variabilidade quanto às suas características morfológicas, tais como tamanho, cor e formato de folhas, frutos e flores, entre outros. São, em sua maioria, anuais, diploides ($2n=24$) e autógamas. São consideradas, em sua maior parte, plantas arbustivas, com caule sem lenhoso que pode exceder 1,0 m de altura. O sistema radicular é pivotante, podendo atingir até 1,2 m de profundidade (FILGUEIRA, 2008; PICKERSGRILL, 2007; CARVALHO; BIANCHETTI, 2004).

A principal característica das pimentas do gênero *Capsicum* é a pungência. Esta característica pode ser atribuída aos capsaicinoides, que estão acumulados na placenta e são liberados quando o fruto sofre dano físico (CARVALHO et al., 2006). O grau de pungência varia entre espécies e variedades, tendo duas escalas de classificação mais comuns: a escala de Unidade de Calor de Scoville (SHU) e a escala de temperatura. Segundo Bontempo (2007), a capsaicina pura equivale a 15.000.000 de unidades Scoville. Quando o valor de SHU ultrapassa 120 mil, as pimentas são utilizadas em conservas, na indústria farmacêutica e na indústria bélica, para fabricação de gás de pimenta (REIFSCHNEIDER, 2000). Já na Escala de Temperatura, criada por Julie Cohn, a pungência da pimenta é classificada em uma escala de 1 a 10, sendo espécies muito picantes classificadas de 8 a 10, espécies com média ardência de 4 a 6 e espécies com pouco ardor de 1 a 3.

A capsaicina vem sendo considerada uma substância medicinal, seus benefícios estão relacionados às propriedades antimicrobianas (CICHEWICZ; THORPE, 1996; REILLY; CROUCH; YOST, 2001; OMOLO et al., 2014), analgesia (LUO; PENG; LI, 2011), anti-inflamatória (SHARMA; VIJ; SHARMA, 2013; BORBÉLY et al., 2015), anti câncer (AGGARWAL et al., 2008) entre outras. Estudos farmacológicos mostraram que em cobaias alimentadas com uma dieta rica em lipídeos, e posteriormente, adicionadas pequenas quantidades de pimenta vermelha ou capsaicina leva a uma redução dos níveis de lipídios (KUDA; IWAI; YANO, 2004). Além de atuar como estimulante do apetite, a capsaicina controla o colesterol, induz termogênese, influencia a liberação de endorfinas e funciona como analgésico natural (PINTO; PINTO; DONZELES, 2013; BONTEMPO, 2007).

De acordo com Bhutani et al. (2007) e Dou et al. (2011), a capsaicina também possui capacidade de bloquear vias de ativação relacionadas com a formação de tumores e, portanto, apresenta potencial para a prevenção e tratamento de mielomas múltiplos e outros tipos de câncer. Mori et al. (2006) relata que a capsaicina foi capaz de promover apoptose *in vitro* em linhagens celulares de câncer de próstata e reduziu significativamente o crescimento de massa tumoral *in vivo*. Diversos estudos relatam o potencial medicinal das pimentas do gênero *Capsicum*, bem como potencial para uso no agronegócio, no controle de pragas. Segundo Neves et al. (2009), o extrato de pimenta malagueta apresentou atividade nematicida contra juvenis de *Meloidogyne javanica*. De acordo com Costa et al. (2009), as pimentas cumari, cambuci e malagueta podem ser usadas como conservantes naturais em alimentos, devido a presença de antioxidantes.

Guimarães et al. (2014) constata que extratos aquosos de sementes de pimenta dedo-de-moça apresentam atividade repelente sobre o gorgulho do milho e frutos de pimenta dedo-de-moça possuem atividade inseticida tanto na forma de extratos alcoólicos quanto de extratos aquosos. O uso de compostos bioativos de plantas no controle de pragas e vetores, por ser um método natural, torna-se mais seguro e barato do que a utilização de agroquímicos. Além disso, evita-se a bioacumulação de

defensivos agrícolas no ambiente e em animais que não são alvos da desinfestação (MADHUMATHY; AIVAZI; VIJAYAN, 2007).

Levando em conta a importância da produção de espécies de pimentas, as técnicas de cultura de tecidos se tornam importantes para produção de mudas em larga escala e para a produção de metabólitos secundários. O cultivo *in vitro*, por ser independente de clima ou estações do ano, permite uma produção contínua de plântulas ou calos.

Os principais reguladores de crescimento utilizados são as auxinas, tais como ácido naftalenoacético (ANA), ácido indol-3-acético (AIA) e ácido indol-3-butírico (AIB), que têm a capacidade de produzir crescimento celular e promover a divisão celular (KRIKORIAN, 1991), também pode-se citar o ácido diclorofenoxiacético (2,4-D), uma auxina sintética amplamente utilizada na indução de calos (NOGUEIRA et al., 2007). Outra classe de reguladores de crescimento são as citocininas, principalmente 6-Benzilaminopurina (BAP) e cinetina (CIN), que promovem divisão, alongamento e diferenciação celular (TAIZ; ZEIGER, 1991). O balanço de auxinas/citocininas adicionados ao meio de cultura, permite a regeneração da planta inteira, pois influencia a via metabólica que o explante deve seguir, sendo esta via destinada à emissão de raízes, brotos ou calos (SKOOG; MILLER, 1957).

Na calogênese, ou seja, na formação de massa de células indiferenciadas, utiliza-se explantes provenientes de tecidos jovens e não lignificados, pois estes apresentam maior potencial de resposta *in vitro*. A partir de calos friáveis pode-se obter uma suspensão celular, utilizada como uma fonte de extração de metabólitos secundários, a partir do cultivo de células em larga escala (VANISREE et al., 2004). O crescimento de calos também pode ser empregado na indução de variação somaclonal, bem como para possíveis estudos fisiológicos (DIXON; PAIVA, 1995; RODRIGUES; ALMEIDA, 2010).

São necessários reguladores de crescimento no meio de cultura para que ocorra a calogênese nos explantes inoculados, visto que os reguladores modificam o metabolismo das células, causando assim a desdiferenciação. O processo é influenciado pelo estado físico de incubação, como luminosidade e calor, pela constituição do meio nutritivo e pelo tipo de explante (GEORGE; HALL; KLERK, 2008).

De acordo com Vietez e San-José (1996), para que haja a formação de calos, recorrentemente é preciso que ocorra a adição de reguladores de crescimento exógenos ao meio de cultura. Desta forma, estudos sobre as condições de organogênese *in vitro* de espécies de pimentas são fundamentais para produção de compostos bioativos com potencial valor medicinal, agrônômico e econômico. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho é avaliar a indução de calos em tecidos foliares e caulinares de cumari-do-pará (*Capsicum chinense* Jacquin) sob diferentes doses de auxinas e citocininas para determinar as melhores condições para a calogênese *in vitro*.

Material e métodos

Foram inoculados segmentos de folhas ou caules, obtidos de plântulas de pimenta cumari-do-pará (*Capsicum chinense* Jacquin) desenvolvidas *in vitro* (FERNANDES; GOMES; NOGUEIRA, 2019), em meios de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) suplementados com diferentes concentrações de 2,4-D (0,0; 1,0; 2,0; e 4,0 mg L⁻¹) combinado com BAP (0,0; 1,0; 2,0; e 4,0 mg L⁻¹). O pH foi corrigido para 5,8 e os meios foram solidificados com 8 g L⁻¹ de ágar e suplementados com 30 g L⁻¹ de sacarose. Por fim, os meios de cultura foram autoclavados a 120°C e 1,1 atm, durante 20 minutos, antes da inoculação do explantes. O experimento foi conduzido em delineamento

inteiramente casualizado, em que cada tratamento foi constituído por 12 repetições, sendo cada repetição um tubo contendo 10 ml de meio de cultivo, onde foram estabelecidos um explante caulinar ou foliar. Os tratamentos foram mantidos sob fotoperíodo de 16h de luz e 8h de escuro. A cada 5 dias, durante 30 dias, foram feitas observações acerca da indução de calos (IC) e área do explante coberta por células de calos (ACCC). A ACCC foi contabilizada por meio de uma adaptação do método descrito por Mendonça et al. (2013), em que a ACCC foi dada pelas porcentagens 0, 10, 25, 50, 75, 90 ou 100% de área do explante coberta por células de calos.

Análises estatísticas

Os dados de indução de calos foram submetidos à análise de variância em esquema fatorial. Anteriormente à análise, procedeu-se a transformação dos dados para atender às pressuposições da ANOVA, conforme descrito abaixo:

Transformação para germinação: $\arcsen\sqrt{P(\%)}$, em que $100\% = 100 - \frac{1}{4}N$ e $0\% = \frac{1}{4}N$

Transformação para características morfológicas e indução de calos: $\sqrt{x + 0,5}$

As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, utilizando-se o Programa Genes (CRUZ, 2016). Os dados de área coberta por células de calo foram submetidos somente à análise descritiva, pelo programa EXCEL.

Resultados

Aos 14 dias após a inoculação de explantes, foram observados os primeiros calos nos tratamentos contendo 1 mg L^{-1} de 2,4-D + 0 mg L^{-1} de BAP e 2 mg L^{-1} de 2,4-D + 0 mg L^{-1} de BAP, tanto para explantes caulinares quanto para explantes foliares. Aos 30 dias, para o experimento contendo explantes caulinares, observou-se formação de calos nos tratamentos suplementados 1 mg L^{-1} de 2,4-D e suas combinações com BAP, 2 mg L^{-1} de 2,4-D e suas combinações com BAP (com exceção do tratamento suplementado com 4 mg L^{-1} de BAP) e também no tratamento suplementado com 4 mg L^{-1} de 2,4-D com 4 mg L^{-1} de BAP (Figura 1).



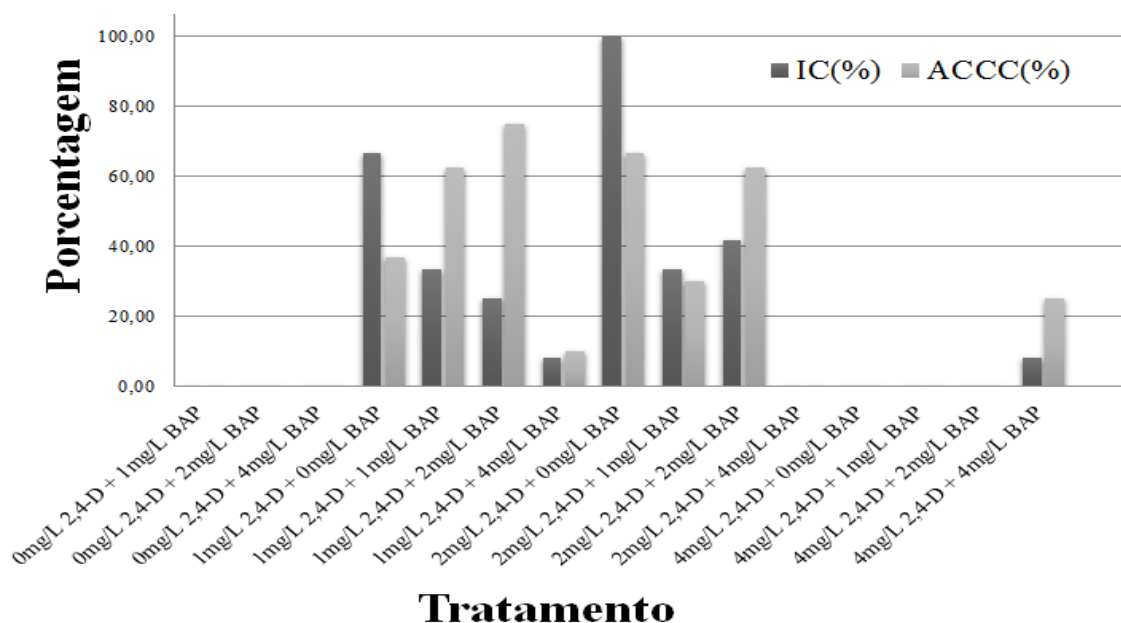


Figura 1 – Porcentagem de indução de calos (IC) e área do explante coberta por células de calos (ACCC) em explantes caulinares de cumari-do-pará (*C. chinense*) em diferentes combinações de BAP e 2,4-D, 30 dias após a inoculação.

Mediante análise de variância (Tabela 1), constatou-se que, para os explantes caulinares ocorreu efeito significativo em todas as fontes de variação.

Tabela 1 - Resumo da análise de variância em esquema fatorial para médias de indução de calos em explantes caulinares de *Capsicum chinense* Jacquin (cumari-do-pará) sob diferentes concentrações de BAP e 2,4-D no meio de cultivo, após 30 dias de cultivo.

| Fonte de Variação | Graus de Liberdade | Somas de Quadrado | Quadrados Médios | Fcal | Probabilidade (%) |
|---|--------------------|-------------------|------------------|----------|-------------------|
| BAP | 3 | 0,83176 | 0,27725 | 7,01176 | 0,02556 ** |
| 2,4 D | 3 | 1,56862 | 0,52287 | 13,22353 | 0,0 ** |
| BAP x 2,4-D | 6 | 1,30067 | 0,21678 | 5,48235 | 0,01248 ** |
| Coefficiente de Variação (%) = 24,89 | | | | | |

** - Significativo a nível de 1% de significância do Teste F

A maior indução (99,9% de IC) ocorreu na presença de 2 mg L⁻¹ de 2,4-D e na ausência de BAP, seguido pela combinação de 1,0 mg L⁻¹ + 0,0 mg L⁻¹ de BAP, que apresentou 43,3% de calogênese (Tabela 2).

Tabela 2 - Porcentagem de indução de calos em explantes caulinares de cumari-do-pará (*C. chinense*) sob diferentes concentrações de BAP e 2,4-D no meio de cultivo, após 30 dias de cultivo.

| BAP ¹ | 2,4-D ² | | | |
|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | 0 mg L ⁻¹ | 1 mg L ⁻¹ | 2 mg L ⁻¹ | 4 mg L ⁻¹ |
| 0 mg L ⁻¹ | 0,00 Ca | 43,30 Ba | 99,99 Aa | 0,00 Ca |
| 1 mg L ⁻¹ | 0,00 Ba | 27,39 Aa | 27,39 Ab | 0,00 Ba |
| 2 mg L ⁻¹ | 0,00 Ba | 19,97 ABab | 27,39 Ab | 0,00 Ba |
| 4 mg L ⁻¹ | 0,00 Aa | 0,00 Ab | 0,00 Ac | 6,28 Aa |

Coefficiente de Variação (%) = 24,89

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a nível de 5% de significância.

¹ 6-Benzilaminopurina

² Ácido diclorofenóxiacético

Em relação à área do explante coberta por células de calos (ACCC), as maiores médias para explantes caulinares foram observadas nos tratamentos 2,0 mg L⁻¹ de 2,4-D + 0 mg L⁻¹ de BAP (66,6%), seguido por 2,0 mg L⁻¹ de 2,4-D + 2 mg L⁻¹ de BAP e 1,0 mg L⁻¹ de 2,4-D + 1 mg L⁻¹ de BAP, ambos com 62,5% de ACCC, todavia o primeiro apresentou maior número de explantes induzidos em comparação com os últimos (Figura 1).

Para os explantes foliares, constatou-se que, com base na análise de variância (tabela 3) o BAP não apresenta efeito significativo na indução de calos, ou seja, este regulador de crescimento isolado não teve influência na formação de calos nos explantes.

Tabela 3 - Resumo da análise de variância em esquema fatorial para médias de indução de calos em explantes foliares de *Capsicum chinense* Jacquin (cumari-do-pará) sob diferentes concentrações de BAP e 2,4-D no meio de cultivo, após 30 dias de cultivo.

| Fonte de Variação | Graus de Liberdade | Somas de Quadrado | Quadrados Médios | Fcal | Probabilidade (%) |
|-------------------|--------------------|-------------------|------------------|---------|-------------------|
| BAP | 3 | 0,16186 | 0,05395 | 1,60491 | 19,29461 ns |
| 2,4-D | 3 | 0,36279 | 0,12093 | 3,59724 | 1,61532 * |
| BAP x 2,4-D | 6 | 0,45209 | 0,07535 | 2,24131 | 4,51939 * |

Coefficiente de Variação (%) = 24,26

* - Significativo ao nível de 5% de significância do Teste F. ns - Não significativo no Teste F

Pode-se verificar maior porcentagem de indução de calos (35,16%) quando os explantes foram inoculados em meio suplementado com 1,0 mg L⁻¹ de 2,4-D + 0,0 mg L⁻¹ de BAP (Tabela 4). Os meios de cultura suplementados com 2 mg L⁻¹ de 2,4-D e com 0,0 mg L⁻¹ ou 1,0 mg L⁻¹ de BAP, geraram 27,37% de indução de calos.

Tabela 4 - Porcentagem de indução de calos em explantes foliares de cumari-do-pará (*C. chinense*) sob diferentes concentrações de BAP e 2,4-D no meio de cultivo, após 30 dias de cultivo.

| BAP ¹ | 2,4-D ² | | | |
|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | 0 mg L ⁻¹ | 1 mg L ⁻¹ | 2 mg L ⁻¹ | 4 mg L ⁻¹ |
| 0 mg L ⁻¹ | 0,00 Ba | 35,16 Aa | 27,37 Aa | 0,00 Ba |
| 1 mg L ⁻¹ | 0,00 Ba | 0,00 Bb | 27,37 Aa | 0,00 Ba |
| 2 mg L ⁻¹ | 0,00 Aa | 6,28 Ab | 6,28 Aab | 0,00 Aa |
| 4 mg L ⁻¹ | 0,00 Aa | 12,95 Aab | 0,00 Ab | 6,28 Aa |

Coefficiente de Variação (%) = 24,26

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a nível de 5% de significância.

¹ 6-Benzilaminopurina

² Àcido diclorofenoxiacético

Os tratamentos que geraram maiores porcentagem de ACCC em explantes foliares de cumari-do-pará foram as combinações de 1 mg L⁻¹ de 2,4-D + 4 mg L⁻¹ de BAP e 1 mg L⁻¹ de 2,4-D + 0 mg L⁻¹ de BAP, ambos com 50% de ACCC. Entretanto, o último tratamento apresentou médias maiores de indução de calos (Figura 2).

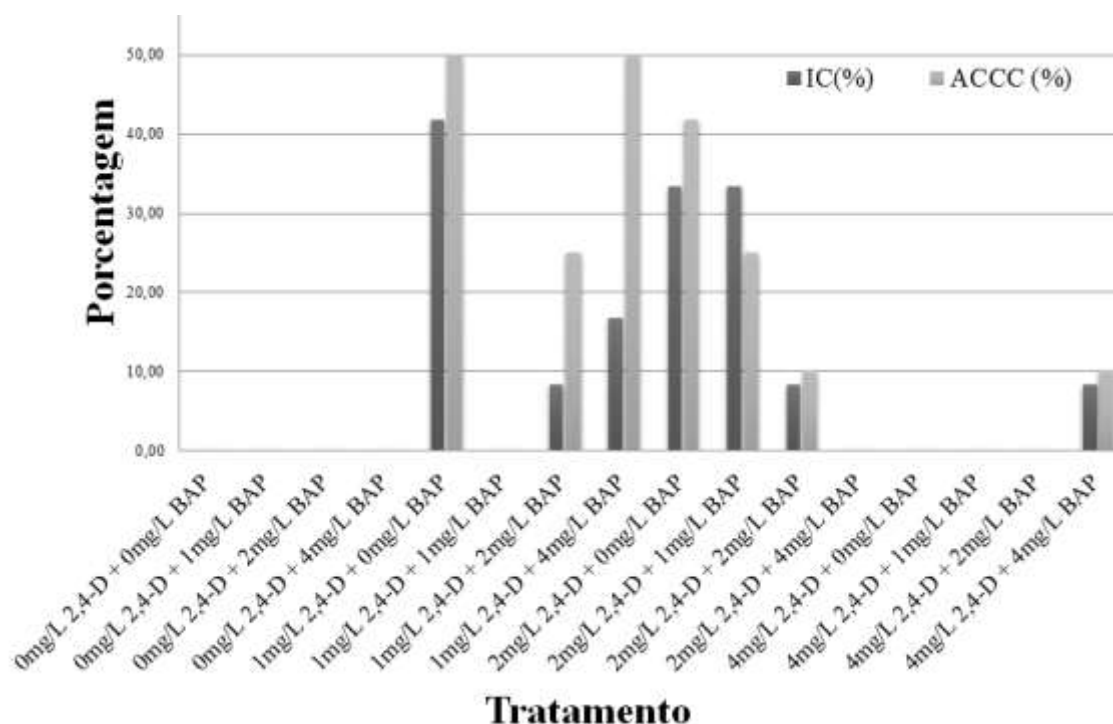


Figura 2 – Porcentagem de indução de calos (IC) e área do explante coberta por células de calos (ACCC) em explantes foliares de cumari-do-pará (*C. chinense*) em diferentes combinações de BAP e 2,4-D, 30 dias após a inoculação.

Ao observar as variáveis IC e ACCC, constatou-se que para explantes caulinares de pimenta cumari-do-pará, o tratamento composto por 2 mg L⁻¹ de 2,4-D na ausência de BAP foi satisfatório para a indução de calos, resultando em 100% de indução e uma média de 66,6% de área coberta por calos.

Além disso, notou-se que 1 mg L⁻¹ de 2,4-D isolado gera a maior indução de calos (41,67%) e grande área coberta por células de calos (45%) em explantes foliares de *C. chinense* Jacquin. Observou-se superioridade na indução de calos bem como na área coberta por células de calos de explantes caulinares em relação à explantes (Figura 1 e 2).

Verificou-se que, para os dois tipos de explantes, os tratamentos contendo altas concentrações de reguladores de crescimento (4 mg L⁻¹), isoladamente ou combinados entre si, apresentaram baixa ou nenhuma formação de calos (Figura 1 e 2). Notou-se que a presença de 2,4-D, isoladamente, na concentração de 1 mg L⁻¹ ou 2 mg L⁻¹ é suficiente para a calogênese, enquanto o uso de BAP não é necessário para a formação de calos.

Smozinski e Santos (2015), ao estudarem a indução de calos em explantes de *Capsicum chinense* cv. Guaraci cumari-do-pará, relataram as combinações de 1,0 mg L⁻¹ 2,4-D + 2,5 mg L⁻¹ BAP e 2,0 mg L⁻¹ 2,4-D, como sendo as mais satisfatórias para formação de calos em explantes foliares e em segmentos nodais e entrenodais, respectivamente. Em um experimento com *C. annuum*, Farias Filho (2006) relata a calogênese com o uso de uma concentração de 2,0 mg L⁻¹ de 2,4-D, bem como formação de calos em *C. chinense* com 1,5 mg L⁻¹ de 2,4-D. Kittipongpatana et al. (2007), observaram a calogênese em explantes foliares de *C. annuum* em meio MS suplementado com 1,0 mg L⁻¹ de 2,4-D e 0,1 mg L⁻¹ de BAP. O uso de 1,0 mg L⁻¹ de 2,4-D e 1,0 mg L⁻¹ de BAP é recomendado para a indução de calos em explantes foliares de *Capsicum annuum* (SOUZA, 2016).

Para Pinhal et al. (2011), o balanço hormonal entre auxinas e citocininas deve ser equilibrado para promover a formação de calos. Nesta pesquisa com cumari-do-pará, as concentrações 1 mg L⁻¹ e 2 mg L⁻¹ de 2,4-D, na ausência de BAP promoveram calogênese, provavelmente devido ao balanço com o conteúdo endógeno de citocininas presente no explantes foliares e caulinares.

Nogueira et al. (2007), em um estudo de indução de calos em explantes foliares de murici-pequeno, relata que as áreas cobertas por calos foram significativamente maiores quando os explantes foram inoculados na presença de 2,4-D, evidenciando que a presença desta auxina é essencial no processo de calogênese. Santos et al. (2014), obtiveram maiores porcentagens da área foliar coberta por calo (AFCC) nos tratamentos suplementados com 1,0 mg L⁻¹ ou 4,0 mg L⁻¹ de BAP em explantes de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & Jarvis., onde todos os explantes apresentaram entre 75 e 100% da AFCC.

A pequena taxa de calogênese em concentrações elevadas de 2,4-D e BAP (4 mg L⁻¹) em explantes de cumari-do-pará, foram similares aos resultados encontrados por Smozinski e Santos (2015), provavelmente devido a um efeito fitotóxico causado por altas concentrações. Sendo assim, pode-se inferir que a proliferação de calos é dependente da espécie bem como da resposta do explante a reguladores de crescimento. Segundo Karp (1995), as diferenças observadas ocorrem devido à variação na sensibilidade do explante aos fitoreguladores e/ou devido a diferenças no teor endógeno de hormônios.

Conclusão

A alta indução de calos e a maior área coberta por calos foram obtidas em segmentos caulinares, quando cultivados em meio de cultura suplementado com a combinação de 2 mg L⁻¹ de 2,4-D + 0 mg L⁻¹ de BAP. Os resultados obtidos neste estudo são extremamente importantes pois permitirão contribuir para o entendimento dos mecanismos fisiológicos de resposta aos reguladores de crescimento exógenos e com estratégias de cultivo *in vitro* da espécie.

Agradecimentos

Os autores agradecem à UFU e as agências de fomento CNPq, CAPES e FAPEMIG pelo apoio financeiro. O segundo autor agradece a FAPEMIG pela bolsa de mestrado concedida.

Referências

- AGGARWAL, B. et al. Potential of Spice-Derived Phytochemicals for Cancer Prevention. **Planta Medica**, v. 74, n. 13, p. 1560-1569, 2008. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18612945> >. DOI: 10.1055/s-2008-1074578.
- BHUTANI, M. et al. Capsaicin is a novel blocker of constitutive and interleukin-6- inducible STAT3 activation. **Clinical Cancer Research**, v.13, n.10, p.3024-3032, 2007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17505005> >. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2575.
- BONTEMPO, M. **Pimenta e seus benefícios à saúde**. São Paulo: Alaúde, 2007. 110 p.
- BORBÉLY, É. et al. Capsaicin-sensitive sensory nerves exert complex regulatory functions in the serum-transfer mouse model of autoimmune arthritis. **Brain Behav Immun**, v. 45, p. 50–59, 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25524130> >. DOI: 10.1016/j.bbi.2014.12.012.
- CARVALHO, S. I. C. et al. Pimentas do gênero *Capsicum* no Brasil. **Embrapa Hortaliças-Documentos (INFOTECA-E)**, 2006.
- CARVALHO, S. I. C.; BIANCHETTI, L. B. **Sistema de produção de pimentas (*Capsicum spp.*)**: Botânica. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2004.
- CICHEWICZ, R. H.; THORPE, P. A. The antimicrobial properties of chile peppers (*Capsicum* species) and their uses in Mayan medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 52, n. 2, p. 61–70, 1996. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8735449> >. DOI: 10.1016/0378-8741(96)01384-0.
- COSTA, L.M. et al. Antimicrobial activity of the genus *Capsicum*. **Higiene Alimentar**, v.23, n.174/175, p.140-145, 2009. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612010000500009 >. DOI: 10.1590/S0101-20612009005000004.
- COSTA, L.V. et al. Caracterização de acessos de pimentas do Amazonas. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 3, p. 290-298, 2015. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-05362015000300290&script=sci_abstract&tlng=pt >. DOI: 10.1590/S0102-05362015000300003.
- CRUZ, C. D. Programa Genes - Ampliado e integrado aos aplicativos R, Matlab e Selegen. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 38, n. 4, p. 547-552, 2016. Disponível em: < <http://arquivo.ufv.br/dbg/genes/genes.htm> >. DOI: 10.4025/actasciagron.v38i4.32629.
- DIXON, R.A.; PAIVA, N. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **Plant Cell**, v. 7, n. 7, p.1085. 1995. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC160915/> >. DOI: 10.1105/tpc.7.7.1085
- DOU, D. et al. Tumor cell growth inhibition is correlated with levels of capsaicin present in hot peppers. **Nutrition and Cancer**, v.63, n.2, p.272-281, 2011. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21240831> >. DOI: 10.1080/01635581.2011.523497.
- DUTRA, F. L. A. et al. Avaliação sensorial e influência do tratamento térmico no teor de ácido ascórbico de sorvete de pimenta. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 4, n. 2, p. 243-251, 2010. Disponível em: < <https://periodicos.utfpr.edu.br/rbta/article/view/686> >. DOI: 10.3895/S1981-36862010000200012.
- FARIAS FILHO, L. P. **Calogênese em anteras e diversidade genética de acessos de pimenta (*Capsicum spp.*) do banco de germoplasma da Universidade Federal de Roraima com base em marcadores RAPD**. 55 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais) - Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2006.

FERNANDES, M. R. C.; GOMES, B. H.; NOGUEIRA, A. P. O. Germinação e avaliação morfológica de plântulas de pimentas (*Capsicum* spp.) cultivadas *in vitro*. **Agrarian Academic Journal**, v. 2, n. 3, p. 62–75, 2019.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV, 2008. 402 p.

GEORGE, E.F.; HALL, M.A.; KLERK, G.D. **Plant propagation by tissue culture**. Netherlands: Background, 2008. 501p.

GUIMARÃES, S. S. et al. Ação repelente, inseticida e fagoinibidora de extratos de pimenta dedo-de-moça sobre o gorgulho do milho. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 4, p. 322-328, 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1808-16572014000400322&script=sci_abstract&tlng=pt>. DOI: 10.1590/1808-1657000172013.

KARP, A. Somaclonal variation as a tool for crop improvement. **Euphytica**, v.85, p.295-302, 1995. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/BF00023959>>.

KITTIPONGPATANA, N. et al. Effect of Some Factors on the Growth of *Capsicum annuum* L. Cell Suspension Culture and Biotransformation of Hydroquinone to Arbutin. **Chiang Mai University Journal of Natural Sciences**, v. 6, n. 2, p. 1-12, 2007. Disponível em: <<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=TH2008001321>>.

KRIKORIAN, A. D. Medios de cultivo: generalidades, composición y preparación. In:ROCA, W. R.; MROGINSKI, L. A. **Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones**. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1991. p. 41-78.

KUDA, T.; IWAI, A.; YANO, T. Effect of red pepper *Capsicum annuum* var. conoides and garlic *Allium sativum* on plasma lipid levels and cecal microflora in mice fed beef tallow. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, n. 10, p. 1695–1700, 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15354321>>. DOI: 10.1016/j.fct.2004.06.007

LUO, X.-J.; PENG, J.; LI, Y.-J. Recent advances in the study on capsaicinoids and capsinoids. **European Journal of Pharmacology**, v. 650, n. 1, p. 1–7, 2011. Disponível em : <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20946891>>. DOI: 10.1016/j.ejphar.2010.09.074.

MADHUMATHY, A. P.; AIVAZI, A.; VIJAYAN, V. A. Larvicidal efficacy of *Capsicum annuum* against *Anopheles stephensi* and *Culex quinquefasciatus*. **Jornal of Vector Borne Diseases**, Índia, v.44, n.1, p.223-226, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17896626>>.

MENDONÇA, E.G. et al. Genetic transformation of *Eucalyptus camaldulensis* by agrobalistic method. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 37, n. 3, p. 419-429. 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622013000300005>. DOI: 10.1590/S0100-67622013000300005

MENICHINI, F. et al. The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of *Capsicum Chinese* Jacq. Cv Habanero. **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 553-560, 2009. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608011771>>. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.09.086.

MORI, A. et al. Capsaicin, a component of red peppers, inhibits the growth of androgen-independent, p53 mutant prostate cancer cells. **Cancer Research**, v. 66, p. 3222–3229, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16540674>>. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-0087

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>>. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.

NEVES, W. S. et al. Ação nematicida de extratos de alho, mostarda, pimento malagueta, de óleo de mostarda e de dois produtos à base de capsaicinoides e alil isotiocianato sobre juvenis de *Meloidogyne javanica* (treub) Chitwood, em casa de vegetação. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 4, p. 255-261, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052009000400001>. DOI: 10.1590/S0100-54052009000400001.

NOGUEIRA, R. C. et al. Indução de calos em explantes foliares de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.). **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.2, p.366-70, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542007000200015>. DOI: 10.1590/S1413-70542007000200015.

OMOLO, M. A. et al. Antimicrobial properties of chili peppers. **Journal of Infectious Diseases and Therapy**, v. 02, n. 04, 2014. Disponível em: <<https://www.omicsonline.org/open-access/antimicrobial-properties-of-chili-peppers-2332-0877.1000145.php?aid=27614>>. DOI: 10.4172/2332-0877.1000145.

PICKERSGRILL, B. Domestication of plants in the Americas: insights from Mendelian and molecular genetics. **Annals of Botany**, v. 100, p. 925-940, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2759216/>>. DOI: 10.1093/aob/mcm193.

PINHAL, H.F. et al. Q. Aplicações da cultura de tecidos vegetais em fruteiras do Cerrado. **Ciência Rural**, v. 41, n. 7, p. 1136-1142, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v41n7/a3911cr4848.pdf>>.

PINTO, C.M.F.; PINTO, C. L.O; DONZELES, S. M. L. Pimenta *Capsicum*: Propriedades químicas, nutricionais, farmacológicas e medicinais e seu potencial para o agronegócio. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 3, n. 2, p. 108-120, 2013. Disponível em: <<https://periodicos.ufv.br/ojs/rbas/index.php/rbas/article/view/225>>.

REIFSCHNEIDER, F. J. B. (Org.) **Capsicum: pimentas e pimentões no Brasil**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia. Embrapa Hortaliças, 2000. 113p.

REILLY, C. A.; CROUCH, D. J.; YOST, G. S. Quantitative analysis of capsaicinoids in fresh peppers, oleoresin capsicum and pepper spray products. **Journal of Forensic Sciences**, v. 46, n. 3, p. 502-9, 2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11372985>>

RODRIGUES, F. R.; ALMEIDA, W. A. B. Calluses from *Cissussicyoides* L. leaves. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, São Paulo, v. 12, n. 3, p. 333-340, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722010000300011>. DOI: 10.1590/S1516-05722010000300011.

SANTOS, M. R. A. et al. Callus induction in leaf explants of *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v. 10, n. 2, p. 41-46, 2014. Disponível em: <<http://177.105.2.193/ojs/index.php/PlantCellCultureMicropropagation/article/view/49>>.

SHARMA, S. K.; VIJ, A. S.; SHARMA, M. Mechanisms and clinical uses of capsaicin. **European Journal of Pharmacology**, v. 720, n. 1-3, p. 55-62, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24211679>>. DOI: 10.1016/j.ejphar.2013.10.053.

SKOOG, F.; MILLER, C.O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultures *in vitro*. **Symp. Soc. Exp. Biol.** V.11, p.118-131, 1957. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13486467>>.

SMOZINSKI, C. V; SANTOS, M. R. A. **Indução de calos em explantes foliares, nodais e entrenodais de *Capsicum chinense* Jacq. cultivar Guaraci Cumari do Pará**. 2015. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/123456789/1976>>.

SOUZA, P. G. **Indução e padrão de crescimento de calos friáveis de *Capsicum Annuum* cv. Pimentão amarelo**. 1026. 39 p. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente) - Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Cytokinins. **Plant Physiology**. California: Cummings, 1991. cap. 17, p. 452-471.

VANISREE, M. et al. Studies on the production of some important secondary metabolites from medicinal plants by plant tissue cultures. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v.45, p.1-22, 2004. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Hsin-Sheng_Tsay/publication/228860673_Studies_on_the_production_of_some_important_secondary_metabolites_from_medicinal_plants_by_plant_tissue_cultures/links/0deec52706b1f643f9000000.pdf>.

VIETEZ, A. M.; SAN-JOSÉ, M. C. Adventitious shoot regeneration from *Fagus sylvatica* leaf explants *in vitro*. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 32, p. 140-147, 1996. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/BF02822757>>.

Recebido em 22 de julho de 2019
Aceito em 4 de novembro de 2019

Compartilhar

