

## INDUÇÃO DE CALOS EM EXPLANTES FOLIARES, NODAIS E ENTRENODAIS DE *Capsicum chinense* JACQ. CULTIVAR “GUARACI CUMARI DO PARÁ”

### CALLUS INDUCTION IN LEAF, NODAL AND INTERNODAL EXPLANTS OF *Capsicum chinense* JACQ. CULTIVAR “GUARACI CUMARI DO PARÁ”

Caroline Vivian Smozinski<sup>1</sup>; Maurício Reginaldo Alves dos Santos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais/ Embrapa Rondônia/ Porto Velho-RO, Brasil

\*Autor correspondente: [mauricio.santos@embrapa.br](mailto:mauricio.santos@embrapa.br)

#### RESUMO

*Capsicum chinense* cv. Guaraci Cumari do Pará é uma pimenteira da família Solanaceae que tem sido estudada devido à presença de capsaicinóides típicos do gênero, com atividade antioxidante, antimutagênica e anticarcinogênica. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um protocolo de indução de calos em explantes foliares, nodais e entrenodais de *Capsicum chinense* cv. Guaraci Cumari do Pará, visando posteriormente ao estabelecimento de células em suspensão para a produção *in vitro* de metabólitos secundários. Foram utilizados segmentos foliares (1 cm<sup>2</sup>), nodais (0,5 cm) e entrenodais (0,5 cm) de plântulas estabelecidas *in vitro*, os quais foram individualmente inoculados em tubos de ensaio contendo meio MS suplementado com 30,0 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 6,0 g L<sup>-1</sup> de ágar acrescido de combinações fatoriais dos reguladores de crescimento 2,4-D (0,0; 1,0; 2,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>) e BAP (0,0; 0,1; 0,5 e 2,5 mg L<sup>-1</sup>). O experimento foi avaliado semanalmente durante 49 dias quanto à indução de calos, porcentagem de área do explante coberta por células de calo (AECC) e a ocorrência de necrose. A concentração de 4,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D provocou necrose nos explantes nodais e entrenodais. A combinação de 1,0 mg L<sup>-1</sup> 2,4-D e 2,5 mg L<sup>-1</sup> BAP resultou em 100% indução de calos em explantes foliares, o qual apresentou 77% de AECC, e a concentração de 2 mg L<sup>-1</sup> 2,4-D resultou em 100% de indução para segmentos nodais e entrenodais, com 100% de AECC.

**Palavras-chave:** Calogênese. Pimenta. Solanaceae.

#### ABSTRACT

*Capsicum chinense* cv. Guaraci Cumari of Pará is a pepper of Solanaceae family which has been studied due to the presence of capsaicinoids. This genus is known to have antioxidant, antimutagenic and anticarcinogenic activity. The objective of this study was to develop a callus induction protocol in leaf, nodal and internodal explants of *Capsicum chinense* cv. Guaraci Cumari of Pará aiming to provide support for further establishment of cell suspension systems for *in vitro* production of secondary metabolites. Leaf (1 cm<sup>2</sup>), nodal (0,5 cm) and internodal (0,5 cm) segments were used as explants and inoculated in MS medium supplemented with 30,0 g L<sup>-1</sup> sucrose, 6,0 g L<sup>-1</sup> agar with factorial combinations of growth regulators 2,4-D (0,0; 1,0; 2,0 and 4,0 mg L<sup>-1</sup>) and BAP (0,0; 0,1; 0,5 and 2,5 mg L<sup>-1</sup>). The experiment was evaluated weekly for 49 days for callus induction, percentage of explant area covered by callus cells (EACC) and the occurrence of necrosis. The concentration of 4,0 mg L<sup>-1</sup> 2,4-D caused tissue necrosis in nodal and internodal explants. The combination of 1,0 mg L<sup>-1</sup> 2,4-D and 2,5 mg L<sup>-1</sup> BAP resulted in 100% callus induction in leaf explants, which showed 77% of EACC, and the concentration of 2 mg L<sup>-1</sup> 2,4-D in the media resulted in 100% of callus induction in nodal and internodal segments with 100% of EACC.

**Key words:** Callogenesis. Pepper. Solanaceae.

## 1. INTRODUÇÃO

As pimenteiras do gênero *Capsicum* (família Solanaceae) são conhecidas desde os primórdios da civilização ocidental (aproximadamente 7500 a.c), e tem feito parte da dieta

humana desde então. Os nativos do hemisfério ocidental domesticaram as espécies selvagens, e selecionaram os vários tipos de pimentas que são consumidas hoje [1].

Este gênero apresenta aproximadamente 30 espécies, das quais a *Capsicum annuum* L., *Capsicum frutescens* L., *Capsicum chinense* Jacq., *Capsicum baccatum* L., e *Capsicum pubescens* são espécies domesticadas e muito utilizadas na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica [2] para preparo de condimentos, prevenção da queda de cabelo, analgésico para dor muscular, e como arma de defesa por meio do uso do gás de pimenta [3].

São plantas que se desenvolvem melhor em clima tropical e subtropical, e apesar de serem nativas da América do Sul e da América Central, são cultivadas desde os países asiáticos ao sul da Europa [1].

No Brasil, o cultivo de pimentas ocorre praticamente em todas as regiões, destacando-se como exemplo de agricultura familiar e de integração do pequeno agricultor com a agroindústria. Seus principais produtores são os estados de Minas Gerais, São Paulo, Goiás, Ceará e Rio Grande do Sul [4].

*Capsicum chinense* L. é a espécie que apresenta maior diversidade no país, no entanto suas variedades não são as mais conhecidas comercialmente, embora possua algumas das mais pungentes variedades entre o gênero, registrando na escala Scoville de 250.000 a 300.000 graus de pungência [5]. A variação no grau de pungência nas plantas está relacionada à concentração de capsaicina, dihidrocapsaicina, e outros componentes semelhantes que são conhecidos como capsaicinóides, esses compostos se destacam por apresentarem atividade antioxidante, antimutagênica e anticarcinogênica [6].

Além de ser utilizada pelo setor farmacêutico devido às suas propriedades medicinais, a capsaicina também apresenta atividade pesticida e repelente contra vários invertebrados. Foram testados extratos xilênicos de *Capsicum* em pulgões e ácaros, onde foi possível observar a eficácia da solução por meio do índice de letalidade nas amostras [7]. Também foi avaliada a toxicidade do extrato etanólico de *Capsicum annuum* em larvas de *Anopheles stephensi* (vetor da malária) e *Culex quinquefasciatus* (mosquito comum), demonstrando uma alta taxa de mortalidade nas duas espécies [8].

A utilização de bioativos de plantas para o controle de pragas e vetores tem se tornado cada vez mais popular na agricultura a fim de evitar a bioacumulação de defensivos agrícolas no ambiente e em animais que não são alvos da desinfestação. Por ser um método natural, o seu uso se torna mais seguro e barato do que os agroquímicos existentes no mercado [8].

Nessa perspectiva, a cultura de tecidos vegetais é uma alternativa viável para a produção de bioativos, pois utiliza células totipotentes que possuem a informação genética necessária para a síntese de metabólitos secundários encontrados na planta-mãe, que inclusive podem ser produzidos independentemente das condições ambientais. Além disso, é possível que se obtenha novos compostos que normalmente não são encontrados na planta matriz que podem apresentar atividades biológicas interessantes para a sociedade. A cultura de tecidos vegetais também oferece um sistema de produção contínuo que assegura o fornecimento dos produtos com qualidade e uniformidade [9], tornando-se um meio eficiente para a descoberta de compostos de interesse social, comercial e econômico.

O primeiro passo para o estabelecimento de suspensões celulares é a formação de uma massa de células desdiferenciadas (calo) obtida através da inoculação de qualquer segmento da planta, que esteja em constante divisão celular, em meio de cultura acrescido de reguladores de crescimento. Posteriormente, transfere-se uma porção de calos friáveis para o meio líquido, mantendo-os sob condições adequadas de agitação, aeração, temperatura e iluminação. A obtenção de uma suspensão celular homogênea dependerá da escolha do explante, da textura do calo e do meio de cultura, pois são fatores que influenciam no desenvolvimento de uma massa celular uniforme [10].

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a indução de calos em segmentos foliares, nodais e entrenodais de *Capsicum chinense* cv. Guaraci Cumari do Pará sob diferentes combinações de reguladores de crescimento, visando o estabelecimento de cultura de células em suspensão para a produção *in vitro* de metabólitos secundários.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

As sementes de *Capsicum chinense* cv. Guaraci Cumari do Pará foram adquiridas no comércio local de Porto Velho, Rondônia. A assepsia foi realizada em câmara de fluxo laminar. As sementes foram imersas em etanol a 70% (v/v) por 1 minuto, em seguida, em solução de hipoclorito de sódio a 1,5% (v/v) por 20 minutos, e submetidas a três enxágues em água bidestilada estéril. Na sequência, foram inoculadas em meio MS [11] suplementado com 30,0 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 6,0 g L<sup>-1</sup> de ágar, sem adição de reguladores de crescimento. O pH foi ajustado para 5,8±0,1 antes da autoclavagem (a 120°C e 1 atm, durante 20 minutos).

Aos 60 dias de cultivo, as plântulas foram utilizadas como explantes. Os segmentos foliares ( $1\text{cm}^2$ ), nodais ( $0,5\text{cm}$ ) e entrenodais ( $0,5\text{cm}$ ) foram individualmente inoculados em tubos de ensaio contendo meio MS suplementado com  $30,0\text{ g L}^{-1}$  de sacarose,  $6,0\text{ g L}^{-1}$  de ágar acrescido de combinações fatoriais dos reguladores de crescimento 2,4-D ( $0,0$ ;  $1,0$ ;  $2,0$  e  $4,0\text{ mg L}^{-1}$ ) e BAP ( $0,0$ ;  $0,1$ ;  $0,5$  e  $2,5\text{ mg L}^{-1}$ ). O pH do meio foi ajustado para  $5,8\pm 0,1$  antes da autoclavagem a  $120^\circ\text{C}$  e  $1\text{ atm}$  por 20 minutos. O experimento foi mantido em sala de crescimento a  $26\pm 2^\circ\text{C}$ , sob fotoperíodo de 16 horas.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 16 tratamentos com três repetições, sendo cada repetição composta por três explantes.

A cada sete dias, por um período de 49 dias foi observada a indução de calos e a ocorrência de oxidação e necrose nos explantes. Aos 49 dias de cultivo, avaliou-se a indução de calos friáveis e o percentual da área do explante coberta por células de calo (%AECC), utilizando o método de observação visual [12].

### 3. RESULTADOS

**EXPLANTES FOLIARES.** A indução de calos foi observada aos 14 dias após a inoculação. O tratamento controle e o tratamento suplementado com  $1,0\text{ mg L}^{-1}$  de 2,4-D, apesar de terem causado o intumescimento em 100% dos explantes, não induziram calogênese. Os tratamentos suplementados com as combinações de  $2,0\text{ mg L}^{-1}$  2,4-D +  $0,5\text{ mg L}^{-1}$  BAP e  $4,0\text{ mg L}^{-1}$  2,4-D +  $0,1\text{ mg L}^{-1}$  BAP apresentaram o percentual de indução de calos abaixo de 60%.

Entretanto, os tratamentos que obtiveram 100% de indução foram acrescidos com as seguintes combinações:  $0,1\text{ mg L}^{-1}$  de BAP;  $0,5\text{ mg L}^{-1}$  de BAP;  $2,5\text{ mg L}^{-1}$  de BAP;  $1,0\text{ mg L}^{-1}$  de 2,4-D +  $0,1\text{ mg L}^{-1}$  de BAP;  $1,0\text{ mg L}^{-1}$  de 2,4-D +  $0,5\text{ mg L}^{-1}$  de BAP;  $1,0\text{ mg L}^{-1}$  de 2,4-D +  $2,5\text{ mg L}^{-1}$  de BAP;  $2,0\text{ mg L}^{-1}$  de 2,4-D +  $0,5\text{ mg L}^{-1}$  de BAP;  $2,0\text{ mg L}^{-1}$  de 2,4-D +  $2,5\text{ mg L}^{-1}$  de BAP;  $4,0\text{ mg L}^{-1}$  de 2,4-D +  $0,5\text{ mg L}^{-1}$  de BAP e  $4,0\text{ mg L}^{-1}$  de 2,4-D +  $2,5\text{ mg L}^{-1}$  de BAP.

O tratamento que combinou  $1,0\text{ mg L}^{-1}$  de 2,4-D +  $2,5\text{ mg L}^{-1}$  de BAP levou a uma resposta mais satisfatória em relação à formação de calo, apresentando uma massa celular mais uniforme para calos friáveis, tendo em vista o tamanho dos mesmos.

O maior percentual de AECC foi observado no meio suplementado com  $1,0\text{ mg L}^{-1}$  2,4-D +  $2,5\text{ mg L}^{-1}$  BAP, onde todos os explantes apresentaram em média 77% da área coberta por células

de calo. Analisando a Tabela 1, os meios suplementados com as combinações: 1,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP; 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 0,1 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 4,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP também induziram uma resposta morfogênica satisfatória, apresentando uma média acima de 70% de AECC.

**Tabela 1** – Percentual da área dos explantes foliares coberta por células de calo (%AECC) de *C. chinense* cv. Guaraci Cumari do Pará.

Reguladores de Crescimento (mg L <sup>-1</sup> )		%AECC
2,4-D	BAP	
0,0	0,0	0.0
0,0	0,1	10.6
0,0	0,5	15.3
0,0	2,5	2.6
1,0	0,0	11.0
1,0	0,1	43.3
1,0	0,5	75.0
1,0	2,5	77.0
2,0	0,0	17.0
2,0	0,1	75.0
2,0	0,5	33.3
2,0	2,5	25.3
4,0	0,0	12.6
4,0	0,1	21.6
4,0	0,5	71.6
4,0	2,5	26.0

A necrose foi observada em 14% dos explantes, sendo o tratamento suplementado com 4,0 mg L<sup>-1</sup> 2,4-D + 0,1 mg L<sup>-1</sup> BAP, o que apresentou um maior índice de necrose (5%).

**EXPLANTES NODAIS.** Na segunda semana de cultivo, foi observada a indução de calos em todos os tratamentos. O tratamento controle apresentou um percentual de indução de 33%, e os tratamentos suplementados com 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP; 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 2,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 4,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D tiveram uma média de indução abaixo de 80%. Os tratamentos que apresentaram 100% de indução foram acrescidos com as seguintes combinações: 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP; 2,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP; 1,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 0,1 mg L<sup>-1</sup> de

BAP; 1,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 0,1 mg L<sup>-1</sup> de BAP; 1,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D e 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP; 1,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 2,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP; 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D e 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 0,1 mg L<sup>-1</sup> de BAP. O uso de reguladores apenas potencializou a formação de calo, o crescimento celular e a necrose dos mesmos.

Foi observado um percentual de 17,5% de necrose nos tratamentos suplementados com a maior concentração de 2,4-D, combinada ou não com BAP. Os tratamentos suplementados com 1,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D combinados a 0,1; 0,5 e 2,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D na ausência ou acrescido de 0,1 mg L<sup>-1</sup> de BAP apresentaram 100% de indução de calos, porém o tratamento mais eficiente para a indução e que apresentou uma massa celular mais uniforme foi o que utilizou apenas 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D.

Analisando a %AECC (Tabela 2), o tratamento acrescido de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D, apresentou 100% da área do explante coberta por células de calos. Aos 22 dias da inoculação, os tratamentos acrescidos com a maior concentração de 2,4-D (4,0 mg L<sup>-1</sup>), combinados ou não com BAP, apresentaram necrose em 17,5% dos explantes. Com exceção dos tratamentos que combinaram 1,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP; 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 0,1 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, que apresentaram uma média de 90% de AECC, os demais tratamentos apresentaram um percentual abaixo de 90%. Os tratamentos que foram suplementados com BAP (0,1 a 2,5 mg L<sup>-1</sup>) na ausência de 2,4-D induziram organogênese.

**Tabela 2** – Percentual da área dos explantes nodais coberta por células de calo (%AECC) de *C. chinense* cv. Guaraci Cumari do Pará.

Reguladores de Crescimento (mg L <sup>-1</sup> )		%AECC
2,4-D	BAP	
0,0	0,0	16,6
0,0	0,1	44,3
0,0	0,5	91,6
0,0	2,5	60,3
1,0	0,0	89,0
1,0	0,1	89,0
1,0	0,5	99,3
1,0	2,5	89,0
2,0	0,0	100,0
2,0	0,1	99,3
2,0	0,5	43,0
2,0	2,5	14,0
4,0	0,0	5,6
4,0	0,1	11,6
4,0	0,5	0,0

4,0

2,5

0,0

EXPLANTES ENTRENODAIS. No 14º dia após a inoculação, foi observada a porcentagem de indução de calos em todos os tratamentos. O tratamento controle apresentou um percentual de indução de 70%, e os tratamentos acrescidos com 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 2,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP; 4,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 0,1 mg L<sup>-1</sup> de BAP; 4,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 4,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 2,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP não apresentaram formação de células de calo. Os tratamentos suplementados com as seguintes combinações: 1,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D; 1,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 0,1 mg L<sup>-1</sup> de BAP; 1,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP; 1,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D e 2,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP; 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D; 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D e 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP apresentaram 100% de calos. A maior concentração de 2,4-D, combinada ou não com BAP, apresentou 30% de necrose nos explantes. O tratamento apenas suplementado com 2,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP induziu organogênese nos segmentos entrenodais.

Os tratamentos suplementados com 1,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D combinados com 0,1; 0,5 e 2,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP e 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D na ausência ou acrescido de 0,1 mg L<sup>-1</sup> de BAP apresentaram 100% de indução de calos, porém o tratamento mais eficiente para a indução que apresentou uma massa celular mais uniforme foi o que utilizou apenas 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D.

Observando a %AECC (Tabela 3), o tratamento suplementado com 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D, apresentou 100% da área do explante coberta por células de calos. Aos 22 dias da inoculação, os tratamentos acrescidos com a maior concentração de 2,4-D (4,0 mg L<sup>-1</sup>), combinados ou não com BAP, apresentaram necrose em 36% dos explantes.

**Tabela 3** – Percentual da área dos explantes entrenodais coberta por células de calo (%AECC) de *C. chinense* cv. Guaraci Cumari do Pará.

Reguladores de Crescimento (mg L <sup>-1</sup> )		%AECC
2,4-D	BAP	
0,0	0,0	41.6
0,0	0,1	34.3
0,0	0,5	49.3
0,0	2,5	25.6
1,0	0,0	98.6
1,0	0,1	77.6
1,0	0,5	98.6
1,0	2,5	98.6
2,0	0,0	100.0
2,0	0,1	78.0
2,0	0,5	77.6

2,0	2,5	0.0
4,0	0,0	11.0
4,0	0,1	0.0
4,0	0,5	0.0
4,0	2,5	0.0

---

Dessa forma, foi verificado que a porcentagem de indução e da área do explante coberta por células de calo foi mais eficiente nos segmentos nodais, apresentando uma média de 66% de indução e 53% da AECC, seguidamente dos explantes entrenodais, que obtiveram uma média de 60% de indução e 49% de AECC. Os segmentos foliares apresentaram um alto índice de indução, porém a AECC ficou abaixo de 35%.

A resposta mais eficaz para indução de calos foi obtida por meio da combinação dos reguladores de crescimento 2,4-D e BAP por meio dos explantes nodais.

#### 4. DISCUSSÃO

Os três tipos de explantes utilizados demonstraram uma resposta positiva para a formação de calos, contudo explantes nodais e entrenodais induziram uma maior formação de células de calo considerando a área do explante. Explantes que apresentam zonas de tecidos meristemáticos (nós e entrenós) apresentam uma maior formação de células de calo, pois as regiões meristemáticas sintetizam quantidades suficientes de auxinas, que combinadas a citocinina do meio de cultura promovem uma maior proliferação celular [13]. Alguns tecidos mostram uma dependência de reguladores exógenos no meio, enquanto outros sintetizam as quantidades que necessitam, os tecidos podem mostrar essa capacidade biossintética a partir do isolamento do explante, do estabelecimento da cultura ou desenvolver essa capacidade durante o período da cultura [14].

A formação de calos friáveis em explantes foliares de *Capsicum annum* L. foi promovida utilizando a combinação dos reguladores de crescimento ANA, 2,4-D, CIN e AIA, onde a maior formação foi observada no tratamento que combinou 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 0,5 mg L<sup>-1</sup> de CIN, apresentando calos grandes e friáveis [15]. Porém, a maior concentração de 2,4-D (2,5 mg L<sup>-1</sup>) combinada com a maior concentração de CIN (2,5 mg L<sup>-1</sup>), não apresentou nenhuma proliferação celular. O mesmo não ocorreu nos explantes foliares de *C. chinense* cv. Guaraci Cumari do Pará, visto que as maiores concentrações de 2,4-D, combinadas ou não com

BAP, apresentaram grande multiplicação celular, demonstrando-se eficiente para a indução de calos.

A resposta mais efetiva para a formação de calos a partir de segmentos do caule da variedade Naga Chili (*Capsicum chinense* Jacq.) foi obtida com a utilização da combinação de 3,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP com 1,0 mg L<sup>-1</sup> de ANA, apresentando 91% de indução e posteriormente, a regeneração de plantas [16]. Já para explantes nodais e entrenodais de *C. chinense* cv. Guaraci Cumari do Pará, a maior concentração de BAP (2,5 mg L<sup>-1</sup>) induziu brotações na ausência do regulador de crescimento 2,4-D, contudo os explantes foliares não apresentaram brotações em nenhum dos tratamentos.

A concentração de 2,21 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D aumentou a proliferação de células de calo em 70% dos explantes entrenodais de *C. annuum* L., onde houve um crescimento mais rápido de calos brancos e friáveis [17]. Porém, a maior produção de células de calo (95%) foi alcançada com a combinação de 2,21 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 0,45 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Em *C. chinense* Jacq., o meio de cultura suplementado com a maior concentração de 2,4-D (4,0 mg L<sup>-1</sup>) causou necrose em 96% dos explantes.

A interação dos reguladores de crescimento BAP e 2,4-D é efetiva para a indução de calos em explantes foliares de *Cissus verticillata*, porém a concentração de 4,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP resulta em alta proliferação de células de calo, cobrindo 100% da área dos explantes [18]. Em outro trabalho, foi avaliada a influência da combinação de 2,4-D e BAP na indução de calos em *Kalanchoe pinnata* Lam. sendo que a maior proliferação de células de calo ocorreu na presença dos dois reguladores de crescimento, chegando a um percentual de 100% de indução no tratamento em que houve a combinação de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D com 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP [19]. Em relação à AECC, a combinação de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP com 1,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D atingiu 100% de AECC em 63.6% dos explantes. Em *C. chinense* Jacq., o meio suplementado com 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D induziu 100% da AECC em segmentos nodais e entrenodais. Entretanto, para explantes foliares a combinação mais eficiente ocorreu entre 1,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 2,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, alcançando um percentual de 77% de AECC.

## CONCLUSÃO

A indução de calos em explantes de *Capsicum chinense* cv. Guaraci Cumari do Pará demonstrou-se efetiva por meio da suplementação do meio MS com os reguladores de crescimento 2,4-D e BAP nas concentrações 1,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D + 2,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP para explantes foliares e 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D para segmentos nodais e entrenodais. Apesar de ter

havido indução nos explantes nodais e entrenodais na ausência de reguladores, a adição dos 2,4-D e BAP ao meio de cultura contribuiu para a formação e desenvolvimento de calos.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) pela concessão de bolsa a Caroline Vivian Smozinski.

## REFERÊNCIAS

- [1] DE, A. K. *Capsicum: The genus Capsicum*. Taylor & Francis, Londres, 2003.
- [2] RIZWAN, M.; SHARMA, R.; SONI, P.; GUPTA, N. K.; SINGH, G. Regeneration protocol for chilli (*Capsicum annuum* L.) variety Mathania. **Jornal of Cell and Tissue Research**, v.13, n.1, p.3513-3517, 2013.
- [3] RUIZ-LAU, N., MEDINA-LARA, F., MINERO-GARCIA, Y., ZAMUDIO-MORENO, E., GUZMÁN-ANTONIO, A., ECHEVARRÍA-MACHADO, I., MARTÍNEZ-ESTÉVEZ, M. Water deficit affects the accumulation of capsaicinoids in fruits of *Capsicum chinense* Jacq. **HortScience**, v.46, n.3, p.487-492, 2011.
- [4] EMBRAPA. **Sistema de produção: Pimenta Capsicum**. Disponível em <[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/Pimenta\\_capsicum\\_spp/importanciaeconomica.html](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/Pimenta_capsicum_spp/importanciaeconomica.html)>, [acesso em 5 de mai 2015].
- [5] VOTAVA, E. J.; BOSLAND, P.W. NuMex Suave Red and NuMex Suave Orange Mild *Capsicum chinense* cultivars. **Hortscience**, v.16, n.3, p.760-764, 2014
- [6] ANTONIOUS, G. F.; BERKE, T.; JARRET, R. L. Pungency in *Capsicum chinense*: Variation among countries of origin. **Journal of Environmental Science and Health**, v.44, n.2, p.179-184, 2009.
- [7] KAZEM, M. G. T.; EL-SHEREIF, S. A. E. H. N. Toxic effect of *Capsicum* and *Garlic* xylene extracts in toxicity of boiled linseed oil formulations against some piercing sucking cotton pests. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, v.8, n.4, p.390-396, 2010.
- [8] 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.
- [9] RAMACHANDRA, R.; RAVISHANKAR, G. A. Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolites. **Biotechnology Advances**, v.20, n.1, p.101-153, 2002.

- [10] CHATTOPADHYAY, S.; FARKYA, S.; SRIVASTAVA, A. S.; BISARIA, V. S. Bioprocess considerations for production of secondary metabolites by plant cell suspension cultures. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v.7, n.3, p.138-149, 2007.
- [11] MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.
- [12] CERQUEIRA, E. S.; PINTO, J.E.B.P.; MORAIS, A.R.; CASTRO, N.E.A.; CARDOSO, M.G.; LAMEIRA, O.A. Indução de calos em erva-de-touro (*Tridax procumbens* L.) utilizando diferentes reguladores de crescimento e tipos de explantes. **Ciência e Agrotecnologia**, v.26, n.2, p.301-308, 2002.
- [13] BARBOSA, M. H. P.; INNECO, R.; PINTO, J. E. B. P.; PINTO, C. A. B. P. Efeito de reguladores de crescimento e tipo de explantes na morfogênese *in vitro* de *Capsicum annuum* L. **Ciência Rural**, v. 24, n. 1, p. 67-72, 1994.
- [14] CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. Brasília: EMBRAPA-CNPH/EMBRAPA-SPI, 1998.
- [15] UMAMAHESWARI, A.; LALITHA, V. *In vitro* effect of various growth hormones in *Capsicum annuum* L. on the callus induction and production of capsaicin. **Jornal of Plant Sciences**, v.2, n.5, p. 545-551, 2007.
- [16] RAJ, R. P.; GLINT, V. D.; BABU, N. *In vitro* plant regeneration in *Capsicum chinenses* Jacq. (Naga Chili). **Jornal of Applied Biology and Biotechnology**, v.3, n.1, p.30-33, 2015.
- [17] KHAN, H.; SIDDIQUE, I.; ANIS, M. *In vitro* organogenesis from internode derived callus culture of *Capsicum annuum* L. **Jornal of Plant Biochemistry and Biotechnology**, v.20, n.1, p.84-89, 2011.
- [18] SANTOS, M. R. A.; FERREIRA, M. G. R.; GUIMARÃES, M. C. M.; LIMA, R. A.; OLIVEIRA, C. L. L. G. Callogenesis in leaves of *Kalanchoe pinnata* Lam. By 2,4-d and BA action. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.16, n.3, p.760-764, 2014.
- [19] SANTOS, M. R. A.; ROCHA, J. F.; PAZ, E. S.; SMOZINSKI, C. V.; NOGUEIRA, W. O.; FERREIRA, M. G. R.; GUIMARÃES. Callus induction in leaves explants of *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis . **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v.10, n.2, p.41-46, 2014.