

## RESPOSTAS MORFOGENÉTICAS DE JENIPAPEIRO EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE CULTURA *IN VITRO*<sup>1</sup>

CAMILA SANTOS ALMEIDA<sup>2</sup>, ANA VERUSKA CRUZ DA SILVA<sup>3</sup>, APARECIDA GOMES DE ARAÚJO<sup>4</sup>, ANA DA SILVA LÉDO<sup>5\*</sup>

**RESUMO** - O objetivo do presente trabalho foi estudar as respostas morfofenéticas de explantes de jenipapeiro em diferentes condições de cultura *in vitro* para subsidiar futuros protocolos de multiplicação e produção *in vitro* de metabólitos secundários. Após 90 dias de cultivo, as plântulas de jenipapeiro foram segmentadas (segmentos nodal e foliar) e transferidas para meio MS suplementado com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e diferentes concentrações de 2,4-Diclorofenoxiacético - 2,4-D (0; 4 e 8 mg L<sup>-1</sup>) combinadas com quatro concentrações de benzilaminopurina-BAP (0; 1; 2 e 3 mg L<sup>-1</sup>). Aos 120 dias a porcentagem de explantes com resposta morfofenética quanto à formação de calos e/ou organogênese foi avaliada. O 2,4-D nas concentrações de 4 e 8 mg L<sup>-1</sup> induz aumento na resposta morfofenética, principalmente na formação de calos, segmentos foliar e nodal de *Genipa americana* L. acesso SIR. O BAP a 1,77 mg L<sup>-1</sup> induz maior formação de calos em segmentos foliares e maior regeneração de brotos nos segmentos foliar e nodal. As concentrações de 2,4-D e BAP estudadas não induzem à formação de calos embriogênicos nos segmentos foliar e nodal de jenipapeiro do acesso SIR.

**Palavras-chave:** *Genipa americana* L. Organogênese *in vitro*. Calogênese. 2,4-Diclorofenoxiacético. Benzilaminopurina.

## MORPHOGENETIC RESPONSES OF JENIPAPO IN DIFFERENT *IN VITRO* CULTURE CONDITIONS

**ABSTRACT** - The goal of this paper was to study the morphogenetic responses of jenipapo explants in different culture conditions *in vitro* to support multiplication and *in vitro* production of secondary metabolites protocols. After 90 days of cultivation, the jenipapo seedlings were segmented (nodal and leaf segments) and transferred to MS medium supplemented with 30 g L<sup>-1</sup> sucrose and different concentrations of 2.4-Dichlorophenoxyacetic acid -2.4-D (0; 4 and 8 mg L<sup>-1</sup>) combined with four concentrations of benzilaminopurine- BAP (0; 1; 2 and 3 mg L<sup>-1</sup>). After 120 days the percentage of explants with morphogenetic response, as is the formation of calluses and/or organogenesis was evaluated. The 2.4-D at concentrations of 4 and 8 mg L<sup>-1</sup> induces an increase in morphogenetic response, especially in callus formation, of leaf and nodal segments. The BAP 1.77 mg L<sup>-1</sup> induces increased callus formation in leaf segments and induces their higher shoot regeneration in leaf and nodal segments. The concentrations of 2.4-D and BAP studied do not induce the formation of somatic embryogenesis in leaf and nodal segments of jenipapo SIR access.

**Keywords:** *Genipa americana* L. Organogenesis *in vitro*. Callogenesis. 2.4-Dichlorophenoxyacetic acid. 6-Benzilaminopurine.

\*Autor para correspondência

<sup>1</sup>Recebido para publicação em 01/03/2013; aceito em 14/10/2014.

<sup>2</sup>Renorbio, Universidade Federal de Sergipe, Avenida Marechal Rondon, Jardim Rosa Elze, São Cristóvão, Sergipe, Brasil, kmilinhafsa@hotmail.com.

<sup>3</sup>Embrapa Tabuleiros Costeiros, Avenida Beira Mar 3250, Aracaju, Sergipe, Brasil, ana.veruska@embrapa.br.

<sup>4</sup>Embrapa Tabuleiros Costeiros, Avenida Beira Mar 3250, Aracaju, Sergipe, Brasil, agaraujo2003@hotmail.com.

<sup>5</sup>Embrapa Tabuleiros Costeiros, Avenida Beira Mar 3250, Aracaju, Sergipe, Brasil, ana.ledo@embrapa.br.

## INTRODUÇÃO

A família Rubiaceae possui 550 gêneros e aproximadamente 9.000 espécies (JUDD et al., 2008). O gênero *Genipa* tem apenas duas espécies: *G. americana* L.; e *G. infundibuliformis* Zappi & Semir. A primeira é nativa e cultivada em toda a região neotropical, desde o México até a Patagônia. E a segunda é encontrada apenas no Centro-Sul do Brasil (DELPRETE et al., 2005). *Genipa americana* L. é uma espécie de importância econômica por sua multiplicidade de uso, sendo utilizada como essência florestal, como produtora de alimentos, na recomposição de matas ciliares, em atividades medicinais e ainda para o repovoamento de animais em zonas tropicais da fauna brasileira (BAHIA, 2012). Apresenta, também, grande demanda por parte do mercado de frutas frescas por se bastante saborosa, de baixa perecibilidade e com excelentes qualidades nutricionais (DANTAS et al., 2009).

O estudo de respostas morfofenéticas *in vitro* tem sido aplicado para diversas espécies de importância econômica como a banana, o mamão, a tomate, o pau-brasil e a seringueira (BORGES et al., 2005; BORGES et al., 2006; SEGUISIMARRO; NUEZ, 2007; WERNER et al., 2009; COSTA et al., 2011; MODESTE et al., 2012;). A morfogênese *in vitro* resulta da interação entre os processos de indução, competência celular, determinação e diferenciação celular (CHRISTIANSON; WARNICK, 1983) que culminam na obtenção de órgãos ou embriões somáticos.

A capacidade de regeneração *in vitro* é uma das exigências para a produção de plantas utilizáveis em programas de melhoramento genético. Como cada genótipo apresenta um potencial específico, diversos protocolos têm sido elaborados com o intuito de desenvolver tecnologias que possam acelerar o processo de regeneração (OLIVEIRA et al., 2006). Usualmente o jenipapeiro tem sido propagado por sementes, entretanto estudos indicam a possibilidade de propagação assexuada por enxertia por borbulhia, garfagem e micropropagação (DANTAS et al., 2009). As técnicas de propagação *in vitro* em massa de jenipapeiro têm sido baseadas na organogênese (ROCHA, 2006; YEE et al., 2010) com o uso de cotilédones, folhas e hipocótilo na presença de reguladores como benzilaminopurina e o ácido naftalenoacético. Existem poucos relatos científicos sobre a indução de calos embriogênicos em jenipapeiro.

Adicionalmente, o cultivo de calos e células têm facilitado a elucidação dos fatores que interferem no metabolismo secundário, tendo em vista a produção *in vitro* de compostos de importância medicinal *in vitro* (OKSMAN-CALDENTEY; INZÉ, 2004). O jenipapeiro é quimicamente caracterizado pela presença de iridóides, sendo a genipapina o primeiro a ser isolado de frutos da espécie no Brasil (DEJERASSI, 1960 citado por BARBOSA, 2008) e apresentar propriedades farmacológicas e poder anti-

oxidante (ALMOG et al., 2001; KOO et al., 2004; BYUNG-CHUL et al., 2005 citados por BARBOSA, 2008).

Deste modo, o objetivo do presente trabalho foi estudar as respostas morfofenéticas de explantes de jenipapeiro em diferentes condições de cultura *in vitro* para subsidiar futuros protocolos de multiplicação e produção *in vitro* de metabólitos secundários.

## MATERIAL E MÉTODOS

As sementes para a produção de plântulas assépticas doadoras de explantes foram obtidas de frutos maduros de acessos de jenipapeiro de população natural do povoado Siriri, Sergipe (acesso SIR) (10°36'50.79"S; 37°07'36.05"O). Após a extração, as sementes foram mantidas por 24 horas em temperatura ambiente. Em seguida, submetidas a assepsia em câmara de fluxo laminar, sendo imersas em álcool 70% (v/v) por 60 segundos e em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl), com 2,5% de cloro ativo na proporção 2:1 com duas gotas de detergente por 20 minutos (ROCHA, 2006). Ao final desse tempo, foram lavadas três vezes em água destilada e autoclavada.

Para obtenção de plântulas assépticas, as sementes foram inoculadas em meio de cultura básico com metade da concentração de sais MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 4,5g L<sup>-1</sup> de Phytigel® (ALMEIDA et al., 2013). O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 ± 0,1 e previamente autoclavado por 15 minutos em temperatura de 121 ± 1°C e pressão de 1,05 atm.

Para o estudo das respostas *in vitro*, foram utilizados dois tipos de explantes, segmentos nodais e foliares, excisados de plântulas assépticas de jenipapeiro com 90 dias de cultivo *in vitro*. Os explantes foram inoculados em frascos de vidro com capacidade de 250 mL, contendo 30 mL de meio de cultura básico MS 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e gelificados com 4,5 g L<sup>-1</sup> de Phytigel®. Foram avaliadas três concentrações (0; 4 e 8 mg L<sup>-1</sup>) de 2,4- diclorofenoxiacético (2,4-D) combinadas com quatro concentrações (0; 1; 2 e 3 mg L<sup>-1</sup>) de benzilaminopurina (BAP).

As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura controlada de 25 ± 2°C, umidade relativa do ar médio em torno de 70%, ausência de luz por 90 dias e depois transferidas para fotoperíodo de 12 horas de luz e intensidade luminosa de 60 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> durante 30 dias, totalizando 120 dias de cultivo.

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 4 x 2 (três concentrações de 2,4-D combinadas com quatro concentrações de BAP e dois tipos de explantes – segmento foliar e segmento nodal), totalizando 24 tratamentos com cinco repetições. Cada parcela experimental foi composta de três frascos contendo dois explantes/frasco. Aos 120 dias a porcentagem de explantes

com resposta morfogênética foi avaliada quanto à formação de calos e/ou organogênese.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F ( $P < 0,05$ ) e comparados pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). E para tratamentos quantitativos foi realizada análise de regressão ( $P < 0,05$ ) e ajustadas equações de regressão polinomial utilizando programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito significativo isolado do 2,4-D, BAP e do explante (E) e das interações 2,4-D x E e BAP x E na porcentagem de explantes com resposta morfogênética (Tabela 1), não havendo efeito significativo para as demais combinações de fatores.

**Tabela 1.** Resumo do quadro de análise de variância da porcentagem de explantes de jenipapeiro (*Genipa americana* L.) do acesso Siriri (SIR) com resposta morfogênética em função de diferentes concentrações de benzilaminopurina (BAP) e 2,4-D diclorofenoxiacético (2,4-D) e do tipo de explante.

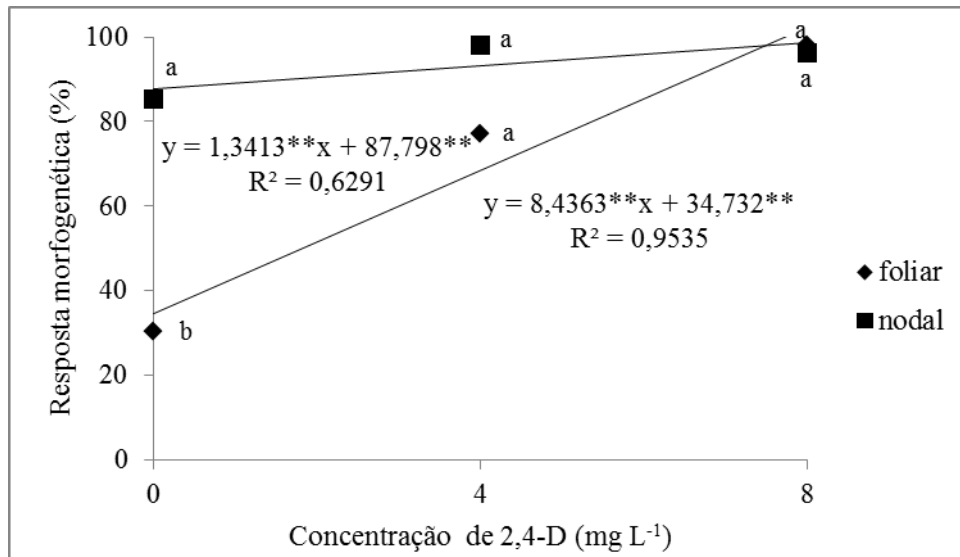
FV	GL	QM
2,4-D	2	17736,884007**
BAP	3	2880,457804**
Explante (E)	1	18287,928640**
2,4-D x BAP	6	386,924481 <sup>ns</sup>
2,4-D x E	2	11225,433978**
BAP x E	3	2548,532370**
2,4-D x BAP x E	6	968,582290 <sup>ns</sup>
Erro	96	450,617284
CV (%)		26,56

\*\*significativo a 1% de probabilidade pelo teste F; e ns-não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

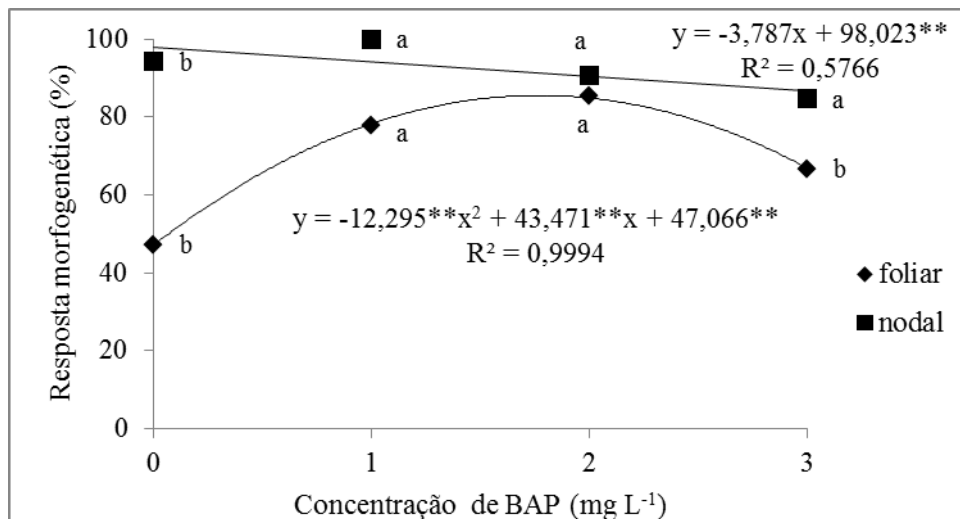
A porcentagem de explantes com resposta morfogênética variou segundo uma regressão linear para os segmentos foliar e nodal na presença de 2,4-D. Houve um acréscimo gradativo na resposta em função do aumento das concentrações de 2,4-D, principalmente em segmentos nodais (Figura 1). O tipo de explante influenciou na resposta morfogênética, sendo observado no segmento nodal maior formação de calos friáveis e organogênese direta e indireta comparado com o foliar na ausência e na presença de 4 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D. O estágio fisiológico do explante é um fator importante, conforme relatado por Guerra et al. (1999), e está relacionado com o número de receptores das células responsivas para os reguladores de crescimento presentes no meio de cultura.

Na presença de BAP fora observado um comportamento linear da resposta morfogênética em segmentos nodais, havendo uma pequena redução na resposta dessa variável em função do aumento das concentrações de BAP. A sua adição ao meio de cul-

tura teve efeito positivo na resposta morfogênética do explante foliar, com comportamento quadrático e ponto máximo de resposta observado na concentração de 1,77 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Na ausência dessa citocinina fora observado o desenvolvimento morfogênético de apenas 47,22% dos explantes foliares (Figura 2). A presença de citocinas no meio de cultura tem sido reportada por vários autores como indutor de maior resposta morfogênética *in vitro*. Segundo Borges et al. (2005), a adição de thiaziduron (TDZ) no meio de cultura promoveu maior formação de calos basais nas cultivares de tomateiro Diva, Carmem e Thomas. Em explantes de mamoeiro, Borges et al. (2006) obtiveram maior formação de calos friáveis e vários brotos regenerados na presença de 0,22 mg L<sup>-1</sup> TDZ. Ferreira et al. (2005) demonstraram o aparecimento de estruturas embriogênicas em explantes foliares de cupuaçu cultivados em meio de cultura suplementado com essa citocinina.



**Figura 1.** Porcentagem de resposta morfológica (calogênese e/ou organogênese) de segmentos nodal e foliar do acesso de jenipapeiro (*Genipa americana* L.) SIR (Siriri) em função da concentração de benzilaminopurina (BAP) aos 120 dias de cultura *in vitro*. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% entre os segmentos nodal e foliar, dentro de cada concentração de BAP.



**Figura 2.** Porcentagem de resposta morfológica (calogênese e/ou organogênese) de segmentos nodal e foliar do acesso de jenipapeiro (*Genipa americana* L.) SIR (Siriri) em função da concentração de benzilaminopurina (BAP) aos 120 dias de cultura *in vitro*. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% entre os segmentos nodal e foliar, dentro de cada concentração de BAP.

Observou-se nesse estudo que houve diferença estatística entre os explantes foliar e nodal na ausência e na presença de BAP nas concentrações 1 e 3 mg L<sup>-1</sup>. De modo geral, o explante nodal apresentou maior resposta morfológica na ausência e na presença do BAP do que o explante foliar. Somente na concentração de 2 mg L<sup>-1</sup> de BAP os segmentos nodal e foliar não diferiram entre si. Resultados semelhantes foram observados por Borges et al. (2005) em hipocótilo de diferentes cultivares de tomateiro e por Jordan (2011) em segmentos nodais de *Vasconcellea chilensis* Planch quando comparado com segmentos foliares. Em *Pfaffia tuberosa* (Spreng.) Hicken a combinação hormonal favoreceu o crescimento do calo e ao mesmo tempo a regeneração (FLORES

et al., 2006). Esses autores verificaram que nessa espécie os segmentos nodais apresentaram melhores respostas quanto a proliferação de calos friáveis e morfogênese em relação aos segmentos foliares.

Na presença de 2 e 3 mg L<sup>-1</sup> de BAP não houve regeneração de brotos por organogênese em ambos os explantes, sendo verificada na ausência de BAP maior regeneração por organogênese 15,27 e 37,50% para os segmentos foliar e nodal, respectivamente (Tabela 2). A utilização de reguladores de crescimento vegetal adicionados ao meio de cultura tem a função de suprir prováveis deficiências de fitormônios nos explantes oriundos da planta matriz com o objetivo de induzir os processos de dediferenciação e rediferenciação celular, culminando na formação de tecidos e órgãos determinantes para o

desenvolvimento da planta *in vitro* (PIZA et al., 2001). Provavelmente o nível endógeno de citocinina nos explantes foi suficiente para induzir a formação de brotos, tendo o BAP efeito inibitório quando adicionado ao meio de cultura. Segundo Santos (1998) citado por Cordeiro et al. (2006), elevadas concentrações de citocinina parecem reagir com a quantidade de auxina endógena do explante, o que leva à formação de calos provocando certa inibição no surgimento dos brotos. As altas porcentagens de calogênese observadas em ambos os explantes na

presença de BAP corroboram com esses autores.

Ambos os explantes também apresentaram baixa regeneração na presença de 2,4-D e maior calogênese na presença de 2,4-D. Oliveira et al. (2006) observaram que explantes de hipocótilo de feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), cultivares 'João Paulo II' e 'Setentão' apresentaram maior formação de calos na presença de 4,4 mg L<sup>-1</sup> de TDZ, enquanto as cultivares 'Epace 10' e 'Pitiúba' na presença de 2 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D.

**Tabela 2.** Valores médios da porcentagem de calogênese e organogênese em segmentos foliar e nodal de jenipapeiro (*Genipa americana* L.) na ausência e na presença de BAP e 2,4-D aos 120 dias de cultivo.

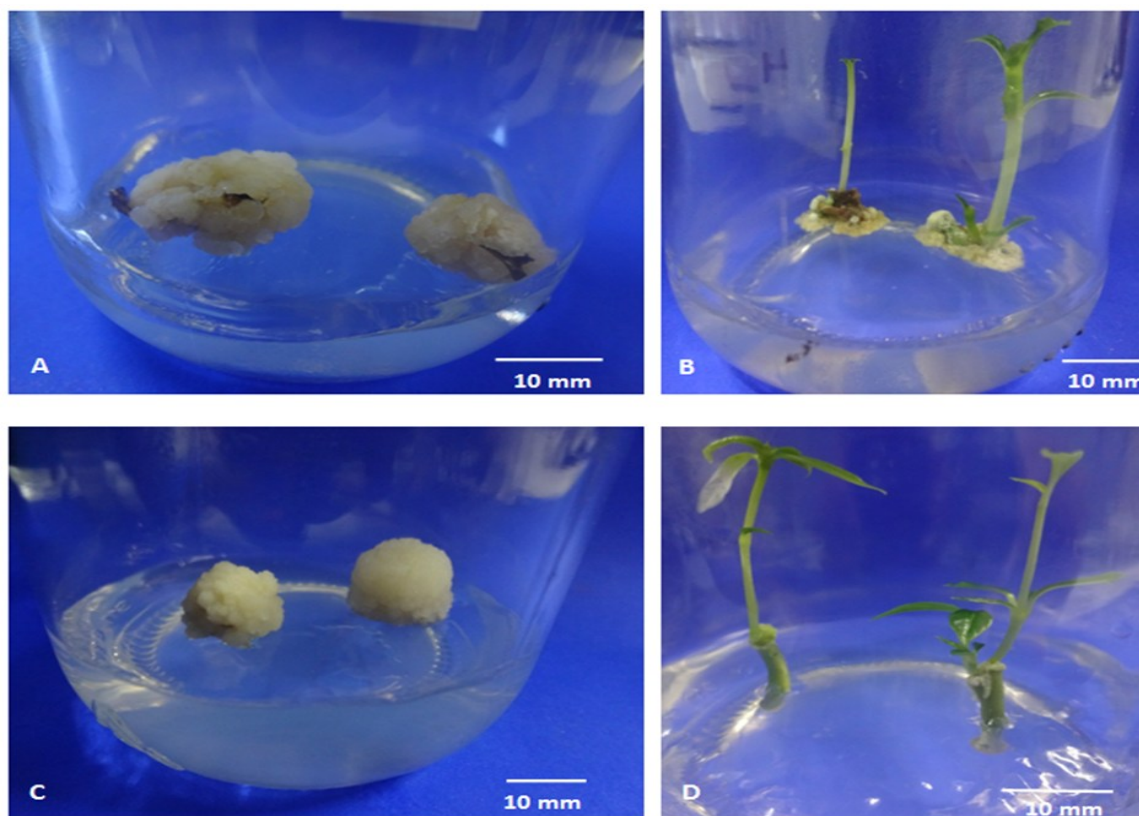
BAP (mg L <sup>-1</sup> )	Calogênese		Organogênese	
	Foliar	Nodal	Foliar	Nodal
0	31,95	56,62	15,27	37,50
1	76,46	97,21	1,39	2,79
2	85,29	90,63	0	0
3	66,67	84,62	0	0

2,4-D (mg L <sup>-1</sup> )	Calogênese		Organogênese	
	Foliar	Nodal	Foliar	Nodal
0	30,43	76,04	0	9,38
4	72,91	87,50	4,17	10,42
8	89,59	85,73	8,33	10,42

De modo geral, os explantes foliares apresentaram a formação de calos friáveis e organogênese indireta (Figura 3 A e B) e os segmentos nodais, calos friáveis e organogênese direta (Figura 3 C e D). A regeneração de brotos via organogênese indireta foi relatado também em *Pfaffia tuberosa* (Spreng.) Hickenem segmentos nodais cultivados com 22,5 mg

L<sup>-1</sup> de BAP e 221,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D (FLORES et al., 2006). O tipo de calo formado em um determinado genótipo, seu grau de diferenciação celular e potencial morfogênico dependem do explante e dos constituintes do meio de cultura, conforme relatado por George e Sherrington (1984).



**Figura 3.** Formação de calos friáveis em segmentos foliares (A) e nodais (C) na presença de 4 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D e de brotações adventícias (organogênese) em segmentos foliares (B) e nodais (D) na presença de 1 mg L<sup>-1</sup> BAP de jenipapeiro (*Genipa americana* L.).

Não foi observada até os 120 dias a indução de calos embriogênicos nos diferentes tratamentos testados. Em estudos *in vitro* com o pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.), Werner et al. (2009) também não definiram as concentrações ideais de reguladores de crescimento para a expressão de embriões somáticos, ressaltando que essa espécie necessita de elevadas concentrações de auxina, como o 2,4-D. Posteriores estudos deverão ser conduzidos para a indução de embriões somáticos e sua conversão em plantas completas de jenipapeiro.

A capacidade apresentada por diversos explantes de jenipapeiro em formar calos, em meio suplementado com diversos reguladores de crescimento, indica a possibilidade de produção *in vitro* de compostos de importância medicinal *in vitro*, conforme preconizado por (OKSMAN-CALDENTY; INZÉ, 2004). Estudos mais aprofundados, como a avaliação do estágio fisiológico e dos níveis endógenos de fitormônios nos explantes para melhor controle da expressão morfogênica *in vitro* e da produção de metabólitos secundários deverão ser considerados futuramente.

## CONCLUSÕES

O 2,4-D nas concentrações de 4 e 8 mg L<sup>-1</sup> induz aumento na resposta morfogênica, principalmente na formação de calos, de segmentos foliar e nodal de *Genipa americana* L. do acesso SIR. O BAP a 1,77 mg L<sup>-1</sup> induz maior formação de calos em segmentos foliares e sua ausência induz maior regeneração de brotos nos segmentos foliar e nodal. As concentrações de 2,4-D e BAP estudadas não induzem à formação de calos embriogênicos nos segmentos foliar e nodal de jenipapeiro do acesso SIR.

## AGRADECIMENTOS

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Apoio (FAPITEC-SE) pelo suporte financeiro e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de mestrado.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, C. S. et al. Efeito do meio de cultura na germinação *in vitro* jenipapeiro. **Scientia Plena**, São Cristóvão, v. 9, n. 10, p. 1-6, 2013.

BAHIA. Secretaria de Agricultura, Irrigação e Reforma Agrária. **Jenipapo**. Disponível em: <<http://www.seagri.ba.gov.br/jenipapo.htm>> Acesso em: 23

nov. 2012.

BARBOSA, D.A. **Avaliação fitoquímica e farmacológica de *Genipa americana* L. (Rubiaceae)**. 2008. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

BORGES, N. S. S.; BENBADIS, A. K.; MARCO, C. A. Respostas morfogênicas de tomateiro cultivado *in vitro*. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n. 1, p. 91-97, 2005.

BORGES, N. S. S. et al. Avaliação da descontaminação, germinação e respostas morfogênicas do mamão cultivado *in vitro* (*Carica papaya* L.). **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 37, n. 2, p. 308-313, 2006.

CHRISTIANSON, M.L.; WARNICK, D. A. Competence and determination in the process of *in vitro* shoot organogenesis. **Development Biology**, London, v. 35, p. 288-93, 1983.

CORDEIRO, I. M. C. C. et al. Efeito de BAP sobre a proliferação de brotos *in vitro* de *Schizolobium amazonicum* Huber exDucke (Paricá). **Cerne**, Lavras, v. 10, n. 1, p. 118-124, 2004.

COSTA, F. H. S. et al. Poliploidização em ápices caulinares de bananeira e seus efeitos morfofisiológicos *in vitro*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 8, p. 805-813, 2011.

DANTAS, A. C. V. L. et al. Jenipapo. In: SANTOS-SEREJO, J. A. et al. **Fruticultura tropical: espécies regionais e exóticas**. Brasília: EMBRAPA, 2009. p. 275-291

DELPRETE, P.G.; SMITH, L.B.; KLEIN, R. M. Rubiaceas. In: REITZ, A. R. (ed.). **Flora Catarinense**, II Parte-RUBI, vol. II – gêneros de H-T. Itajaí: TBG/Smithsonian. p. 345-842, 2005.

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, M. G. R. et al. Indução de embriogênese somática em cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 3, p. 500-503, 2005.

FLORES, R.; NICOLOSO, F. T.; VASCONCELOS, N. J. S. Indução de calos e aspectos morfogênicos de *Pfaffia tuberosa* (Spreng.) Hicken. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 8, n. 3, p. 89-95, 2006.

GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. **Plant**

- propagation by tissue culture.** Edington: Exegetics, p. 576-1361, 1984.
- GUERRA, M. P.; TORRES, A. C.; TEIXEIRA, J. B. Embriogênese somática e sementes sintéticas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília: EMBRAPA-SPI/ EMBRAPA-CNPQ, v. 2, p. 533-568, 1999.
- JORDAN Z. M. *In vitro* morphogenic responses of *Vasconcellea chilensis* Planch. ex A. DC (Caricaceae). **Agronomía Colombiana**, Bogotá, v. 29, n. 3, p. 481-485, 2011.
- JUDD, W. S. et al. **Plant systematics.** Sunderland: Sinauer, 2008.
- MODESTE, K. K. et al. Callogenesis and Somatic embryogenesis induction in *Hevea brasiliensis*: effects of fruit shelf-life and carbon source. **Research in Biotechnology**, Zurich, v. 3, n. 6, p. 42-50, 2012.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 437-497, 1962.
- OKSMAN-CALDENTEY, K.; INZÉ, D. Plant cell factories in the post-genomic era: new ways to produce designer secondary metabolites. **Trends in Plant Science**, London, v. 9, n. 9, p. 433-440, 2004.
- OLIVEIRA, V. P. et al. Avaliação da regeneração *in vitro* de explantes de caupi e soja. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 37, n. 2, p. 153-159, 2006.
- PIZA, I. M. T.; LIMA, G. P. P.; BRASIL, O. G. Reguladores vegetais na micropropagação de abacaxizeiro. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 48, n. 280, p. 681-690, 2001.
- ROCHA, M. A. C. **Morfogênese *in vitro* em jenipapeiro (*Genipa americana* L.).** 2006, 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas – BA, 2006.
- SEGUI-SIMARRO, J. M.; NUEZ, F. Embryogenesis induction, callogenesis, and plant regeneration by *in vitro* culture of tomato isolated microspores and whole anthers. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 58, n. 5, p. 1119–1132, 2007.
- WERNER, E. T. et al. Controle da calogênese do pau-brasil *in vitro*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 6, p. 987-996, 2009.
- YEE, T. F.; GOH, C. J.; RAO, A. N. *In vitro* studies on *Genipa americana*. **Journal of Tropical Medicinal Plants**, Malaysia, v. 11, n. 1, p. 71-88, 2010.