



MEC – SETEC

IFMG - CAMPUS BAMBUÍ

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MINAS GERAIS

Curso Superior de Bacharelado em Agronomia

EFEITO DE SACAROSE E GIBERELINA NO CRESCIMENTO
in vitro **DO TOMATE DE ÁRVORE**
(Cyphomandra betacea)

Matheus Miller Mesquita de Araújo

BAMBUÍ-MG

2019

MATHEUS MILLER MESQUITA DE ARAÚJO

EFEITO DE SACAROSE E GIBERELINA NO CRESCIMENTO
in vitro **DO TOMATE DE ÁRVORE**
(Cyphomandra betacea)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais - Campus Bambuí como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientação: Dr. Ricardo Monteiro Correa

BAMBUÍ – MG

2019

A658e Araújo, Matheus Miller Mesquita de.
2019 Efeitos de sacarose e giberelina no crescimento *in vitro* do
tomate árvore (*Cyphomandra betacea*). / Matheus Miller Mesquita
de Araújo. – Bambuí, 2019.

40 f. : il.

Orientador: Ricardo Monteiro Correa.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia)
– Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Minas
Gerais. Campus Bambuí.

1. Cultivo *in vitro*. I. Correa, Ricardo Monteiro (orientador).
II. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas
Gerais - Campus Bambuí. III. Título.

CDD: 630

MATHEUS MILLER MESQUITA DE ARAÚJO

EFEITO DE SACAROSE E GIBERELINA NO CRESCIMENTO
in vitro **DO TOMATE DE ÁRVORE**
(Cyphomandra betacea)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais - Campus Bambuí como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Aprovado em 21/11/2019

Prof. Ricardo Monteiro Correa (Orientador – IFMG - Campus Bambuí)

Maria Cristina da Silva (Laboratorista - IFMG - Campus Bambuí)

Ana Cardoso Clemente Ferreira Filha de Paula (Professora – IFMG - Campus Bambuí)

Érika Soares Reis (Professora – IFMG Campus - Bambuí)

BAMBUÍ-MG

2019

A Deus, em primeiro lugar; a toda a minha família, em especial, aos meus pais, Divino Assunção de Araújo e Maria Vanderlene Mesquita de Araújo, que não mediram esforços para a realização de mais este sonho.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal de Minas Gerais - *Campus* Bambuí, pela disponibilização do Laboratório de Cultura de Tecidos, materiais e equipamentos necessários.

Agradeço ao meu orientador, Dr. Ricardo Monteiro, pelo suporte e incentivos.

À laboratorista, Maria Cristina, pela ajuda, disposição e por compartilhar seus conhecimentos. Também ao ex-colaborador do laboratório, Lucas Boeno.

Agradeço imensamente a Deus por ter sido meu auxílio em todos os momentos e pelas oportunidades diárias para que pudesse chegar até aqui. Aos meus pais, que acreditaram, incentivaram, comemoraram cada vitória e me ajudaram nos momentos difíceis.

Aos meus amigos, aos que ajudaram diretamente na realização deste trabalho e àqueles que não puderam estar por perto, mas torceram pelo meu sucesso.

"Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível, e de repente você estará fazendo o impossível."

Francisco de Assis

RESUMO

Araújo, Matheus Miller Mesquita de. **EFEITO DE SACAROSE E GIBERELINA NO CRESCIMENTO *in vitro* DO TOMATE DE ÁRVORE (*Cyphomandra betacea*)** Bambuí: IFMG – Campus Bambuí, 2019.

O método de propagação de plantas em cultura de tecidos é, muitas vezes, indicado na multiplicação em massa para várias espécies de vegetais. Entre estes, destaca-se o Tomate de Árvore (*C. betacea*), cujos frutos possuem expressivo valor comercial em algumas regiões do mundo. Para tornar sua propagação em maior escala, são necessários estudos para otimizar a suplementação do meio de cultura e garantir sua propagação *in vitro*. Neste sentido, o trabalho teve como objetivo avaliar o resultado de diferentes doses de sacarose 0; 10; 20; 30; 40 e 50 g L⁻¹ no primeiro ensaio. Após a identificação da melhor dosagem, esta foi utilizada no segundo ensaio, para avaliação de diferentes doses de ácido giberélico (GA₃) 0; 0,25; 0,5; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹, sendo que ambos os ensaios foram inoculados em meio de cultura MS por 45 dias. Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do IFMG - *Campus* Bambuí. Os explantes utilizados foram provenientes de plantas-mães já estabelecidas *in vitro*. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com 5 tratamentos, 6 repetições, sendo cada repetição constituída por 4 tubos. Os dados do ensaio de sacarose foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial (p<0,05), e as médias dos tratamentos para o ensaio de GA₃ foram comparadas estatisticamente pelo teste de Scott Knott (p<0,05), utilizando-se o software SISVAR. As variáveis analisadas para os dois ensaios foram: número de brotações, comprimento da maior brotação, número de nós, altura de plântulas, número de folhas, presença e ausência de raízes, presença e ausência de calos e peso seco. Concluiu-se que a dosagem de 30 g L⁻¹ de sacarose teve uma melhor influência no comprimento das brotações, número de nós, altura das plântulas, número de folhas e na presença de calos, e as demais variáveis não tiveram interferência dos níveis de sacarose. Foi verificado que as diferentes dosagens de GA₃ testadas não influenciaram nenhuma das variáveis analisadas.

Palavras-chave: Cultivo *in vitro*. Regulador de Crescimento. Propagação.

ABSTRACT

Araújo, Matheus Miller Mesquita de. **EFFECT OF SUCROSE AND GIBERELINE ON *in vitro* GROWTH OF TREE TOMATO (*Cyphomandra betacea*)**. Bambuí: IFMG – Campus Bambuí, 2019.

The method of propagating plants in tissue culture is often indicated for mass multiplication for various plant species. Among these stands Tree Tomato (*C. betacea*) where its fruits have significant commercial value in some regions of the world. To make its propagation to larger scale levels, studies are needed to optimize the supplementation of the culture medium and ensure its propagation *in vitro*. In this sense, the objective of this study was to evaluate the results of different sucrose levels such as: 0; 10; 20; 30; 40 and 50 g L⁻¹ in the first test, after identification of the best dosage, it was used in the second test to evaluate different levels of GA₃ (gibberellic acid) such as 0; 0.25; 0.5; 1.0 and 2.0 mg L⁻¹, both tests inoculated in MS culture medium for 45 days. The tests were conducted at the Plant Tissue Culture laboratory of IFMG Campus Bambuí. The explants used for both assays were from mother plants already established *in vitro*. The experimental design was completely randomized, with 5 treatments, 6 repetitions and, each repetition consisting of 4 tubes. Sucrose assay data were subjected to analysis of variance and polynomial regression ($p < 0.05$), and treatment means for the GA₃ assay were statistically compared by the Scott Knott test ($p < 0.05$), both tests using the SISVAR software. The variables analyzed for both trials were: number of shoots, length of largest shoot, number of nodes, seedling height, number of leaves, presence and absence of roots, presence and absence of corns and dry weight. It was concluded that the dosage of 30 g L⁻¹ sucrose had a better influence on shoot length, number of nodes, seedling height, number of leaves and callus, the other variables did not interfere with sucrose levels. . It was verified that, the different dosages of GA₃ tested, did not influence any of the analyzed variables.

Keywords: *In vitro* cultivation. Growth Regulator. Propagation.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Comp. Brotos (A) e número de nós (B) de plântulas de *C. betacea* em função dos níveis de sacarose.....24
- Figura 2.** Altura de plântulas (A) e presença de calos (B) de plântulas de *C. betacea* em função dos níveis de sacarose.....26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estudo dos níveis de sacarose no crescimento <i>in vitro</i> de <i>C. betacea</i>	21
Tabela 2. Estudo dos níveis de ácido giberélico no crescimento <i>in vitro</i> de <i>C. betacea</i>	21
Tabela 3. Efeito da sacarose no número de brotos de <i>C. betacea</i> cultivada <i>in vitro</i>	23
Tabela 4. Efeito da sacarose no número de folhas de <i>C. betacea</i> cultivada <i>in vitro</i>	26
Tabela 5. Efeito da sacarose na presença raízes de <i>C. betacea</i> cultivada <i>in vitro</i>	27
Tabela 6. Efeito da sacarose no peso seco de <i>C. betacea</i> cultivada <i>in vitro</i>	28
Tabela 7. Valores médios de número de brotos (NB), comprimento de brotos (CB), número de nós (NN) e altura de planta (HP) de <i>C. betacea</i> cultivada <i>in vitro</i> em diferentes concentrações de GA ₃	29
Tabela 8. Valores médios de número de folhas (NF), presença de raízes (PR), presença de calos (PC) e peso seco (PS) de <i>C. betacea</i> cultivada <i>in vitro</i> sob diferentes concentrações de GA ₃	30

LISTA DE ABREVIATURAS

<i>C. betacea</i>	<i>Cyphomandra betacea</i>
GA ₃	Ácido Giberélico
GAs	Giberelinas
g	Gramas
mg L ⁻¹	Miligramas por litro
MS	Murashige e Skoog

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Aspectos gerais da cultura do Tomate de Árvore	14
2.2 Botânica.....	14
2.3 Propagação.....	15
2.4 Cultura de tecidos	15
2.5 Efeito da sacarose.....	16
2.6 Efeito do ácido giberélico.....	17
3. OBJETIVOS.....	19
3.1 Geral	19
3.2 Específicos	19
4. MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1 Localização do experimento.....	20
4.2 Espécie utilizada.....	20
4.3 Ensaio com doses de sacarose	20
4.4 Ensaio com doses de ácido giberélico (GA ₃).....	21
4.5 Delineamento experimental	22
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	23
6. CONCLUSÃO	32
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

1. INTRODUÇÃO

O Tomate de Árvore (*Cyphomandra betacea*) pertence à família das Solanaceae, sendo uma espécie nativa da região dos Andes, de clima subtropical, que se sobressai muito bem em regiões com temperaturas entre 10 e 20°C (CHACON - CERDAS et al., 2014). O fruto desta planta tem expressivo valor comercial em regiões Colombianas e da Nova Zelândia, pois é consumido *in natura* e também processado, como compotas, conservas e sucos; portanto, é plantado em diversos países sul-americanos, América Central e Oceania. O Tomateiro de Árvore também é encontrado sem valor comercial em outros continentes, como no leste Africano, Ásia e nas Índias Orientais (ACOSTA - QUEZADA et al., 2010; DURANT et al., 2013).

É comum a multiplicação desta planta ser feita de forma sexuada, por sementes, e também de forma assexuada, por meristemas axilares. A propagação sexuada tem menores vantagens em comparação à assexuada, em cultura de tecidos, pois sofre algumas limitações, como dificuldade em enraizar, baixo efeito pelo método de enxertia e podendo ser um carreador de doenças (CANHOTO, 2010).

A cultura de tecidos compõe e aprimora ferramentas para clonagem de vegetais em linha comercial, contribuindo na efetivação de estudos de modificação genética e na conservação das plantas, permitindo a influência mútua entre fatores abióticos e bióticos, que resultarão em plantas saudáveis, vigorosas e superiores geneticamente, que podem ser multiplicadas massivamente, livres de patógenos (EMBRAPA, 2008). No processo do cultivo *in vitro* é necessário o uso de meio adequado para a cultura trabalhada, como macros e micronutrientes, hormônios, sacarose, resultando em benefícios na multiplicação.

Dentro da cultura de tecidos, o meio deve atender a todas as necessidades exigidas pelas plantas. Para melhorar o enriquecimento do meio nutritivo e sendo este essencial, é adicionado um suplemento exógeno como fonte de carboidratos, substituindo o carbono fixado da atmosfera pela planta no processo fotossintético. Concentrações de sacarose interferem na produção de metabólitos secundários e na composição da parede celular. Já o excesso na dosagem pode reduzir a síntese de clorofila e inibir a capacidade fotossintética da planta (PASQUAL, 2001).

O grupo hormonal das Giberelinas (GAs) atua de forma eficiente, apresentando significativos resultados nos números e no comprimento das células em muitas espécies de plantas. Tem a função de alterar o desenvolvimento e o crescimento do vegetal, como alongar

o tecido celular e regular sua divisão (RODRIGUES LEITE, 2004). O uso exógeno do ácido giberélico (GA_3) resulta no desenvolvimento das folhas, crescimento do caule e na parede celular do vegetal, ajudando no alongamento dos entrenós, pois age diretamente no meristema intracelular, o qual é encontrado na base desta estrutura (TAIZ; ZEIGER, 2008).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes doses de sacarose e GA_3 em meio de cultura MS no crescimento da planta *Cyphomandra betacea*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais da cultura do Tomate de Árvore

A planta *Cyphomandra betacea*, mais conhecida como Tomate de Árvore, integra a família das Solanaceae, representada também pelo tomate, batata, berinjela, entre outras. As espécies pertencentes a *Cyphomandra*, são, em sua maioria, plantas nativas das Américas Central e Sul, devido ao fato de serem cultivadas nos Andes, onde o clima é muito propício para o seu cultivo e por este local ser considerado seu centro de origem. Conhecido popularmente como Tomate de Árvore, pode ser chamado também de tamarillo, tomate francês, tomate chimango, tomate da serra. Possui alto valor comercial em países como Equador, Peru, Bolívia e Colômbia (BOHS, 1989).

Pode ser consumido de forma natural ou também ser utilizado em sopas, molhos, saladas, licores, geleias, sorvetes e sucos (MORTON, 1987).

Classificado como um fruto exótico, possui baixo teor calórico. Fornece um valor significativo de nutrientes como vitamina C, minerais como Fe, Mg, Co e K e compostos bioativos, sendo que, em uma porção do fruto, chega-se a mais de 5% da ingestão diária desses nutrientes (LISTER et al., 2005). Contém, também, grande quantidade de proteínas e caroteno, com ação antioxidante, fortalecendo o sistema imunológico (ROBLES; HASHIMOTO, 2006).

De acordo com Robles; Hashimoto, (2006); Bakshi et al., (2017) o tomate de árvore adapta-se melhor em solos bem drenados, com o pH podendo variar de 5,0 a 6,5, e em regiões de temperatura média anual de 15 a 25°C. A altitude recomendada para seu cultivo é a partir de 1000 m, sendo que, em altitudes menores, também se desenvolve, porém não frutifica uniformemente, devido à temperatura noturna não ser fria, de acordo com sua exigência. As raízes destas plantas são curtas e superficiais, desenvolvendo-se melhor em solos bem drenados, leves e férteis.

2.2 Botânica

É denominado uma planta arbustiva, podendo atingir 3 a 5,5 m de comprimento, com um ciclo de vida estimado de 12 a 15 anos. Em suas folhas, são aderidos pelos finos e flexíveis, tanto na parte abaxial quanto na adaxial. As flores desta planta são hermafroditas, de cor branca a leve tom de rosa, que formam de 1 a 6 frutos neste grupo de 10 a 50 flores. Já os ramos não

são resistentes e podem quebrar com facilidade quando estão carregados; por isso, em áreas com ocorrência de muito vento, devem ser protegidos (MUKURALINDA et al., 2016; BOHS, 1989; BAKSHI et al., 2017).

O fruto *C. betacea* tem um formato oval, com o ápice pontudo, possuindo muitas sementes em seu interior, as quais têm um gosto levemente amargo e adstringente, sendo pequenas, finas, planas e duras. Sua casca apresenta textura lisa, e sua coloração varia nos tons de roxo, passando pelo vermelho mais escuro, laranja até o amarelo. Seu tamanho pode variar de 4 a 10 cm de comprimento, e seu diâmetro, de 3 a 5 cm (MORTON, 1987).

É uma planta que se autofecunda, sendo também polinizada por abelhas, começando a florescer com 6 a 8 meses após o plantio. O pleno desenvolvimento dos frutos se dá com cerca de 25 semanas, sendo que a primeira colheita é feita entre 12 a 18 meses, podendo todos os fatores variarem conforme a altitude do local (MUKURALINDA et al., 2016).

2.3 Propagação

Mesmo que não seja difícil a germinação das sementes de tomate de árvore, este método não permite a obtenção de plantas geneticamente uniformes, não sendo útil a propagação de genótipos selecionados. Então, pode ser feita a multiplicação por outros métodos conhecidos - estaquia ou enxertia (GATITA; ALMEIDA, 2003; CORREIA; CANHOTO, 2012; MUÑOZ, 2013). Estes métodos tendem a garantir a manutenção do genótipo; porém, muitas vezes, as questões fitossanitárias são comprometidas, necessitando-se de matérias de 1 a 2 anos, com os requisitos de diâmetro de 1,5 cm, contendo de 3 a 4 gemas (MUÑOZ, 2013). Com o intuito de propagar altos números de exemplares, esta forma de disseminação torna-se difícil de ser aplicada. Assim, a cultura de tecidos otimiza este método, fazendo com que seja possível a obtenção de grande número de plântulas em pouco espaço de tempo.

2.4 Cultura de tecidos

É um método de cultivo que expõe a amplitude de forma que possam ser cultivados os tecidos das plantas, provenientes de alguma parte exclusiva da planta denominada explante (célula, tecido ou órgão de uma planta), baseando-se na capacidade totipotencial e morfogenética das células. É realizado em condições de extrema assepsia e *in vitro*, tendo em vista o melhoramento, o armazenamento e a micropropagação (VASIL; HILDEBRANDT, 1965).

Esta forma de cultivo é executada em ambiente esterilizado, devendo ser removidos contaminantes que se alojam na superfície do material, em frascos de vidro ou descartáveis de boa qualidade, que possam ser submetidos a altas temperaturas, em meio nutritivo, que são os compostos inertes, substâncias naturais, compostos orgânicos e os sais inorgânicos, que são os macronutrientes, micronutrientes e água destilada ou bidestilada, ou, ainda, água deionizada. Além disso, em ambiente controlado, referindo-se à luz, energia radiante, que promove bom desenvolvimento à cultura de tecidos, além da temperatura, que é um fator ambiental responsável por regular o crescimento do vegetal. No interior do laboratório, ela fica em torno de 25 °C, controlada por um sistema de refrigeração (CID, 2010).

O cultivo *in vitro* é separado em estágios: seleção e preparo da planta matriz, estabelecimento da cultura de forma asséptica, produção de propágulos adequados, preparação para o crescimento em meio natural e aclimatização. A literatura ressalta que os explantes providos de plantas mais jovens, ou de plântulas, têm melhores resultados de desenvolvimento cultivados *in vitro*, em relação aos que foram retirados de plantas adultas (PAIVA; PAIVA, 2001).

Dentro da cultura de tecidos, um dos principais problemas para o estabelecimento e a propagação de clones é a contaminação por microrganismos. Por isso, é de grande valia que seja realizada a desinfestação dos explantes, que pode ser feita com hipoclorito de sódio 0,5 a 1%, ou hipoclorito de cálcio 2% durante 5 a 20 minutos. A concentração e o tempo variam de acordo com o explante utilizado, sendo necessária, também, a esterilização da sala de repicagem, que é onde se manipula assepticamente o material vegetal (ANDRADE, 2002).

2.5 Efeito da sacarose

Referindo-se ao cultivo *in vitro*, os tecidos, as plântulas e as células não têm condições apropriadas de encontrar luz e concentração de CO₂, podendo, ainda, não apresentarem porcentagem de clorofila regular para conseguir fazer fotossíntese que proporcione seu crescimento. Então, é necessário adicionar ao meio de cultivo uma suplementação de carboidrato, sendo que o mais utilizado neste processo é a sacarose, pois proporciona uma maior taxa de crescimento na maioria das espécies (CID, 2010).

Os açúcares abastecem com energia metabólica e esqueletos carbônicos a biossíntese de aminoácido e proteínas, polissacarídeos estruturais, como celulose, todos os compostos orgânicos essenciais para o desenvolvimento das células. Estas doses de sacarose são de extrema importância para se obter um ótimo crescimento, de acordo com o explante. Culturas

que são tralhadas com embriões nos estágios iniciais do desenvolvimento do ciclo precisam de doses maiores de sacarose (6 a 10 %), sendo que a concentração mais usual varia de 2% a 3% (CALDAS, 1998).

Assim que o meio de cultura é submetido a autoclave, para sua esterilização, a sacarose é parcialmente hidrolisada em glicose e frutose. Nesta situação, ele ainda pode passar pela reação de Maillard, que provoca ao meio uma coloração amarelo-escuro, variando de amplitude de acordo com a magnitude do evento, sendo esta uma reação entre carboidratos e peptídeos, estimulada pela alta temperatura, que é também aceitável no cultivo *in vitro*, por se tratar do aquecimento da sacarose acima do ponto de fusão (CID, 2010).

2.6 Efeito do ácido giberélico

As biomoléculas produzidas pelas plantas são denominadas hormônios, que têm como função induzir respostas fisiológicas como: indução de brotos, indução de raízes, alongamento e outras finalidades (CID, 2010). A ligação do hormônio com a membrana celular ainda está sob pesquisas, sendo o principal objetivo avaliar as melhores características do receptor (tipo de inserção da membrana celular, relação com a proteína G, número de domínios), levando o estímulo até o núcleo da célula que será o alvo (WOODWARD; BARTEL, 2005).

Os vegetais sintetizam vários tipos de hormônios: Auxinas, Citocininas, Giberelinas, Etileno, Ácido Abscísico e Ácido Jasmônico. Moléculas que possuem efeito similar ao dos hormônios são chamadas de reguladores de crescimento, diferenciando-se da classe dos hormônios por serem sintéticas e não serem produzidas pelas próprias plantas. Além disso, as concentrações de hormônios e reguladores de crescimento que atuam no vegetal são muito pequenos, representados por miligramas (mg) ou micromolares (μM) (CID, 2010).

A classe hormonal das GAs é um grupo de fito-hormônio que concentra sua produção no ápice dos frutos e das sementes e promove vários efeitos sobre o crescimento e desenvolvimento do vegetal, como expansão das folhas, desenvolvimento de flores e germinação, contribuindo para o período de latência das sementes, fazendo estas germinarem, induzindo brotações de gemas, promovendo o desenvolvimento do broto e o incremento do crescimento do calo (TUDZYNSKI, 1999). Desta categoria, são conhecidos e catalogados 136 compostos. A classificação varia de GA_1 a GA_{136} ; dentre estas, as mais conhecidas e com maior relevância são GA_1 , GA_3 , GA_4 e GA_7 , pois têm maior efeito biológico, tornando-as mais importantes comercialmente (TUDZYNSKI, 2009). Destaca-se que GA_3 é o composto de interesse deste trabalho.

Na cultura de tecidos, a mais usual e mais importante dentro da família das GAs é GA₃, pois atua como um hormônio que está relacionado com o alongamento de brotos, controlando a maioria dos processos em uma planta (BARRUETO CID, 1999; RODRIGUES, 2009).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar o crescimento de *Cyphomandra betacea* sob diferentes concentrações de sacarose e giberelina em cultivo *in vitro*.

3.2 Específicos

- Identificar a melhor dose de sacarose que proporcionará as melhores taxas de crescimento;
- Identificar a melhor concentração de GA₃ no crescimento vegetativo do *C. betacea*;
- Aprimorar os protocolos de micropropagação de *C. betacea*.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Localização do experimento

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais - Campus Bambuí, localizado no município de Bambuí, região Centro-Oeste do estado de Minas Gerais, situado à latitude de 20° 00' 23" S, longitude de 45° 58' 37" W e altitude de 706 m.

4.2 Espécie utilizada

Para o experimento, utilizaram-se plantas de Tomate de Árvore (*Cyphomandra betacea*) que estavam estabelecidas em meio MS (Murashige e Skoog, 1962) em sala de crescimento, no Laboratório de Cultura de Tecidos, em temperatura controlada de 25°.

Novos subcultivos foram realizados em meio MS, visando obter plântulas para os ensaios. Os subcultivos foram de 45 dias.

4.3 Ensaio com doses de sacarose

Após o processo de multiplicação dos explantes, sob condições estéreis, isolaram-se, em câmara de fluxo laminar, os segmentos nodais, com o auxílio de uma lâmina de bisturi contendo 2 gemas com tamanho aproximado de 2,5 cm. Em seguida, foram inoculados em tubos de ensaio ($\varnothing = 2,5$ cm) contendo 15 mL de meio MS, e, nesta solução, foram adicionados 0,5 mg L⁻¹ de BAP (6 – benzilaminopurina), o qual é um regulador de crescimento que integra a classe hormonal das citocininas e tem a função de multiplicação celular, sendo uma concentração com melhor resultado (COSTA, 2017).

O pH do meio foi corrigido para 5,7 e solidificado com 0,6% de Ágar, previamente à autoclavagem por 20 minutos a 121°C, sob pressão de 1,0 atm, com as diferentes dosagens de sacarose (Tabela 1). Após a inoculação dos explantes no meio de cultura, os frascos foram tampados, vedados com parafilm e colocados em sala de crescimento com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 14 horas de luz.

Tabela 1: Estudo dos níveis de sacarose no crescimento *in vitro* de *C. betacea*.

Tratamentos	Níveis de Sacarose (g L ⁻¹)
1	0
2	20
3	30
4	40
5	50

Fonte: Autor (2019)

4.4 Ensaio com doses de Ácido Giberélico (GA₃)

Após a identificação, no ensaio anterior, da melhor dosagem de sacarose, procedeu-se a um outro ensaio, visando identificar o melhor nível de giberelina (Tabela 2) no processo de micropropagação desta espécie.

O meio utilizado foi o MS, onde o pH foi corrigido para 5,7 e solidificado com 0,6% de Ágar, previamente à autoclavagem por 20 minutos a 121°C, sob pressão de 1atm. Após a inoculação dos explantes no meio, com as diferentes concentrações de ácido giberélico, em câmara de fluxo laminar, com 2 segmentos nodais com tamanho aproximado de 2,5 cm, em tubos de ensaio ($\varnothing = 2,5$ cm) contendo 15 mL da solução, estes foram colocados em sala de crescimento com temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 14 horas de luz.

Tabela 2: Estudo dos níveis de ácido giberélico no crescimento *in vitro* de *C. betacea*.

Tratamentos	Níveis de GA ₃ (mg L ⁻¹)
1	0
2	0,25
3	0,50
4	1,0
5	2,0

Fonte: Autor (2019)

4.5 Delineamento experimental

O delineamento em ambos os ensaios foi inteiramente casualizado, com 5 tratamentos (doses) e 6 repetições, totalizando 30 parcelas, sendo cada parcela constituída por 4 tubos.

As variáveis analisadas nos 2 ensaios, a partir de 45 dias após o material ser inoculado nos tratamentos, foram: número de brotações, comprimento da maior brotação, número de nós, altura de plântulas, número de folhas, presença e ausência de raízes, presença e ausência de calos e peso seco.

A medição da variável altura de plântulas foi determinada do colo da plântula até a gema apical, e a medição do comprimento da maior brotação, da base da brotação até a gema apical, ambas com o auxílio de paquímetro digital.

O peso seco foi obtido através de secagem do material vegetal previamente acondicionado em sacos de papel e perfurados. Em seguida, foram colocados para secar em estufa com circulação forçada de ar, com temperatura de 60°C por 72 horas. Posteriormente, foi aferida a pesagem em balança analítica.

4.6 Análises estatísticas

Os dados coletados foram analisados pelo programa computacional “Sistema para Análise de Variância” – SISVAR, e as médias, comparadas pelo teste de Skott Knott. Para os ensaios com nível de significância ($p < 0,05$), realizou-se regressão (FERREIRA, 2011).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Ensaio 01: efeito de sacarose no crescimento de Tomate de Árvore (*C. betacea*).

A partir do experimento estudando-se os níveis de sacarose em tomate de árvore, constatou-se que a concentração de 30g L⁻¹ apresentou maior influência na porcentagem de crescimento da planta que as outras dosagens testadas (0, 20, 40 e 50 g).

Houve efeito significativo ($p < 0,05$) para o número de brotos, como é mostrado na Tabela 3, referente às concentrações de sacarose para planta *C. betacea*. Sendo assim, a dose padrão do meio MS não diferenciou das doses 0 e 20 g L⁻¹ para a variável analisada.

Borkowska & Szczerba (1991) confirmam os dados deste trabalho, constatando que, para a cultura de *Prunus cerasus* L., a sacarose ajudou no desenvolvimento de brotos em concentrações entre 20 e 30 g L⁻¹.

Grattapaglia & Machado (1998) afirmam que a sacarose é o melhor meio de fornecer carbono nos protocolos de cultivo *in vitro* e também a melhor forma de diferenciar a célula e o crescimento das microplantas. Estes pesquisadores concordam com os dados deste trabalho, de que níveis de 30 g L⁻¹ promovem novas brotações para a maioria das espécies já formadas em cultura de tecidos.

Tabela 3: Efeito da sacarose no número de brotos de *C. betacea* cultivada *in vitro*

Sacarose (g L ⁻¹)	Nº de Brotos
0	2,89 a *
20	2,92 a
30	3,00 a
40	1,67 b
50	2,25 b
CV (%)	35,13

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Devido ao ajuste do R² ter sido menor que 70%, optou-se por apresentar os resultados desta variável em forma de tabela.

Fonte: Autor 2019.

Pela Figura 1A, observa-se que, à medida que aumentam as doses de sacarose, aumenta, também, o comprimento dos brotos. Pela derivada da curva, percebeu-se que a máxima

dosagem de sacarose, que proporcionou o máximo número de brotos, foi de 30,79 g L⁻¹, sendo o comprimento máximo de brotos obtidos de 20,24 mm. A partir desta dosagem, o número de brotações começa a diminuir.

A pesquisa de Faria (2006) com a variável comprimento de brotos, em *Passiflora giberti*, mostrou que os dados foram semelhantes aos do presente trabalho, onde as doses de sacarose que obtiveram os melhores resultados foram com 30 g L⁻¹, indicando que a presença de açúcar no meio de cultura foi fundamental para manter o crescimento das brotações.

Analisando-se a Figura 1B, com o aumento da concentração de sacarose, o valor referente à variável número de nós da planta *C. betacea* também aumentou. Com o resultado da derivada da curva, notou-se que a maior dosagem de açúcar, que obteve o maior número de nós, foi de 30,5 g L⁻¹, e o número máximo de nós obtidos foi de 5,40. Em sequência a esta concentração, o valor do número de nós começa a reduzir.

Os resultados referentes a esta variável estão em concordância com os dados obtidos pela pesquisa de Braun et al. (2010) com a espécie *Beta vulgaris*. Além disso, outros trabalhos mostraram que o acréscimo nas doses de sacarose acarretou a redução do número de nós em *Solanum tuberosum* (MOHAMED & ALSADON, 2010; BADR et al., 2011; BANDINELLI et al., 2013).

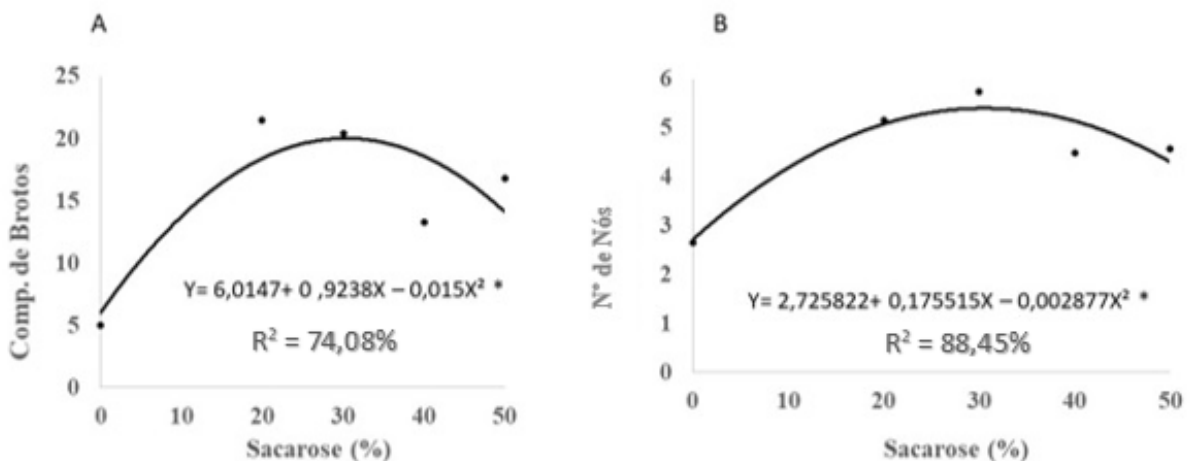


Figura 1: Comp. de Brotos (A) e Número de Nós (B) de plântulas de *C. betaceae* em função de níveis de sacarose.

* Significativo ao nível de 5% pelo teste de F.

Nota-se, pela Figura 2A, que, à medida que o valor da concentração de sacarose vai crescendo, também há o aumento da altura das plântulas. A partir do resultado da derivada da curva, observa-se que a maior dosagem de sacarose, que proporcionou a maior altura, foi de 34

g L^{-1} , atingindo uma média máxima de 44,35 mm. Em medida que ultrapassa o valor de 34 g L^{-1} da dose de sacarose, a curva começa a diminuir.

Com relação ao aspecto negativo de altos níveis de sacarose em relação ao crescimento da parte aérea de *C. betacea*, os resultados mostrados neste trabalho concordam com os alcançados por Galdiano Junior et al. (2013) em plantas de *Cattleya loddigesii* implantadas em meio MS, tratadas com níveis de sacarose, em que concentrações de 22 a 30 g L^{-1} beneficiaram o desenvolvimento da parte aérea, e doses maiores que estas inibiram o crescimento.

Nagao (1993) declara que o açúcar, como fonte de carboidratos, tende a suprir as exigências dos explantes, fornecendo energia ou auxiliando na fonte de esqueletos carbônicos no processo biossintético e na diferenciação celular. De Riek et al. (1997) expressam como os dados do presente trabalho, onde o excesso de açúcar pode prejudicar a síntese de clorofila, diminuem a capacidade fotossintética do cultivo *in vitro*, mesmo sendo essencial ao crescimento.

A presença de calos foi pequena, oscilando de valores próximos de zero até 1 (um). Acompanhando-se a Figura 2B, que representa a variável presença de calos, pode ser observado que o aumento da porcentagem de açúcar no meio de cultura resulta em uma maior porcentagem de calo nas plântulas, até o ponto máximo obtido pela derivada da curva, que é de 36,91 g L^{-1} . Ao atingir essa dosagem, observa-se que a curva começa a diminuir, chegando a um valor máximo de 1,00 calo.

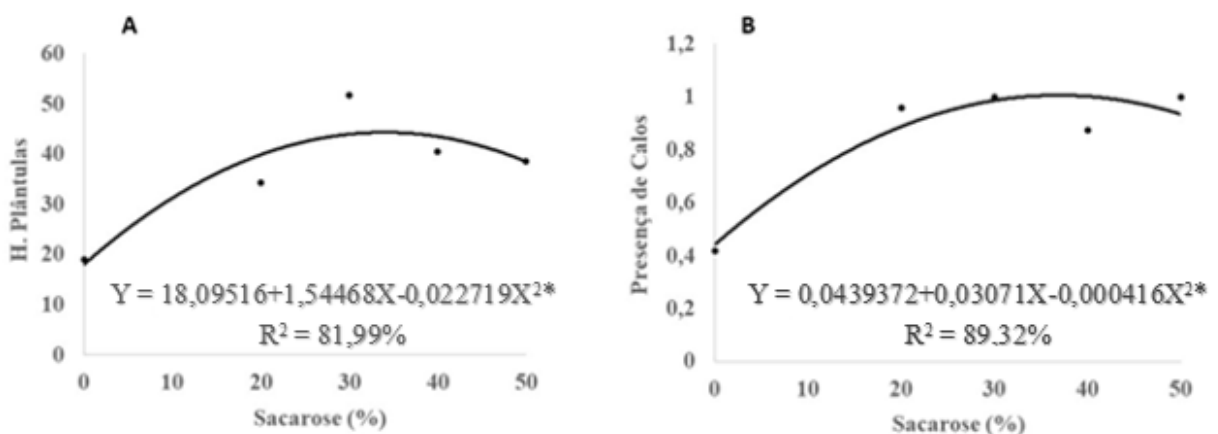


Figura 2: Altura de Plântula (A) e Presença de Calos (B) de plântulas *C. betacea* em função de níveis de sacarose.

*Significativo ao nível de 5% pelo teste de F.

Segundo Erig & Schuch (2005), a formação de calos na zona do enraizamento é indesejável, podendo alterar o vigor das raízes, que é a junção da parede vascular com a plântula.

No presente trabalho, observou-se que o número de folhas de *C. betacea* foi alterado pelas concentrações de sacarose testadas, havendo efeito significativo ($p < 0,05$) destacado na Tabela 4. Dessa forma, a utilização da dosagem padrão do meio MS, que é de 30 g L⁻¹, se diferenciou dos demais níveis testados, favorecendo o número de folhas.

Pesquisa feita por de Galdiano Junior et al. (2012) com *Cattleya loddigesii* corrobora os dados do presente trabalho, verificando-se que o nível de 20 a 30 g L⁻¹ de sacarose beneficiou o número de folhas, sendo que, neste estudo, também se confirmou que o número de folhas é reduzido na testemunha e na concentração de 40 g L⁻¹.

Tabela 4: Efeito da sacarose no número de folhas de *C. betacea* cultivada *in vitro*.

Sacarose (g L ⁻¹)	Nº de Folhas
0	07,92 c*
20	13,00 b
30	17,04 a
40	09,20 c
50	11,80 b
CV (%)	17,65

*Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Skott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Devido ao ajuste do R² ter sido menor que 70%, optou-se por apresentar os resultados desta variável em forma de tabela.

Fonte: Autor 2019.

Não houve efeito significativo ($p < 0,05$) para a presença de raízes, como é mostrado na Tabela 5, referente às concentrações de sacarose para planta *C. betacea*. Desta forma, a dose padrão de sacarose não mostrou ter relação no crescimento das raízes desta planta *in vitro*.

Pesquisa feita por Mc Cown, (1988) mostra que a ausência de uma fonte de carbono em meio de estabelecimento em cultivo *in vitro* impossibilita o desenvolvimento de raízes, pois é necessária uma suplementação exógena de energia; caso o suprimento de fotossintatos seja insuficiente, não há formação de raízes *in vitro*.

Segundo Besson et al. (2010), doses de sacarose podem intervir no crescimento de raízes, e o acréscimo de açúcar, adicionado ao meio de cultura, proporciona uma redução da absorção de água e sais. Thorpe et al. (2008) afirmam, também, que o açúcar sintetizado pela

planta, no ato da fotossíntese, somado com o açúcar contido no meio de cultura, ocasiona alta absorção pela planta, elevando a concentração de sacarose total e prejudicando o enraizamento.

Tabela 5: Efeito da sacarose na presença raízes de *C. betacea* cultivada *in vitro*.

Sacarose (g L ⁻¹)	Presença de Raiz
0	0 a*
20	0 a
30	0,041 a
40	0,375 a
50	0,333 a
CV (%)	319,14

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Autor 2019

Para as diferentes concentrações de sacarose utilizadas no cultivo *in vitro*, observou-se que não houve efeito significativo ($p < 0,05$) no peso seco de *C. betacea* (Tabela 6). Sendo assim, a utilização da dosagem padrão do meio MS não se diferencia dos níveis testados para esta variável.

Tabela 6: Efeito da sacarose no peso seco de *C. betacea* cultivada *in vitro*

Sacarose (g L ⁻¹)	Peso seco (g)
0	0,026 a*
20	0,020 a
30	0,076 a
40	0,120 a
50	0,038 a
CV (%)	133,7

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Skott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Autor 2019

Pesquisas de Cavete et al. (2002) com morangueiro mostraram maiores quantidades de matéria seca adquiridas por plantas micropropagadas, em doses de 45 g L⁻¹ de sacarose, em comparação com 15 e 30 g L⁻¹. Ainda nos estudos destes autores, foi demonstrado um aumento

no peso seco da parte aérea à medida que a concentração de sacarose foi sendo aumentada. Entretanto, as plantas que se desenvolveram nestas concentrações de açúcar adicionado ao meio de cultura, acumularam, no tecido, maior quantidade de massa seca e, conseqüentemente, menor conteúdo de água, podendo se beneficiar melhor da sobrevivência das plântulas em aclimação.

Ensaio 02: efeito de GA₃ no crescimento de plântulas de Tomate de Árvore (*C. betacea*)

A partir do experimento, estudando-se as dosagens de GA₃ em tomate de árvore, constatou-se que não houve significância ($p < 0,05$) para as variáveis analisadas: número de brotos, comprimento de brotos, número de nós e altura de plantas entre as concentrações testadas (0; 0,25; 0,5; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹), descritas na Tabelas 7, independentemente da presença do fitorregulador no meio de cultura, pelo menos até o quadragésimo quinto dia de experimentação.

Tabela 7: Valores médios de número de brotos (NB), comprimento de brotos (CB), número de nós (NN) e altura de planta (HP) de *C. betacea* cultivada *in vitro* a diferentes concentrações de GA₃

Concentração de GA ₃ (mg L ⁻¹)	Médias			
	NB *	CB	NN	HP
0	0.33 a*	20.94 a	6.17 a	61.00 a
0,25	0.55 a	21.56 a	6.42 a	75.47 a
0,50	0.54 a	22.27 a	6.71 a	77.43 a
1,00	0.58 a	29.57 a	7.17 a	79.70 a
2,00	0.71 a	41.31 a	7.50 a	85.31 a
CV (%)	51.53	65.15	20.70	26.20

Fonte: Autor 2019

* Médias seguidas de mesma letra na coluna para cada variável não diferem entre si pelo teste de Scott e Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Em pesquisa feita por Ribeiro et al. (2009), foi observada influência significativa para a mesma variável número de brotos testada neste trabalho, em concentração de 5 mg L⁻¹ de GA₃ com a espécie *Zantedeschia aethiopica*.

No estudo de Soares et al. (2009), com a variável número de brotações, os níveis de GA₃ em espécies de orquídeas (*C. loddigesii* e *H. lobata* x *H. purpurata*) cultivadas *in vitro*, não mostraram diferença significativa entre as dosagens utilizadas.

Pesquisa executada por Figueiredo, Alberto e Viana (2001) afirma a necessidade do ácido giberélico para o alongamento das brotações da espécie *Rollinia mucosa*. Gomes (1999) também concluiu que doses que variam de 1 a 6 mg L⁻¹ de GA₃ ajudam no desenvolvimento e no crescimento de brotações *in vitro* da espécie *Maclura tinctoria*.

Para Simões et al. (2012), o número de nós com adição de GA₃ no meio de cultura não interferiu significativamente em níveis entre 2,0 e 3,0 mg L⁻¹.

Estudos feitos por Diniz et al. (2003) afirmam que a concentração de GA₃ de 0,5 mg L⁻¹, utilizada na espécie *Egletes viscosa* L., proporcionou melhores resultados na altura dos explantes em cultivo *in vitro*.

Vidal et al. (2013) afirmam que GA₃ interfere de forma significativa no crescimento das plântulas, resultando em um melhor desenvolvimento da parte aérea, número de folhas e número de brotações, trabalhando com a cultura de mamoeiro em cultivo *in vitro*.

Referente às variáveis analisadas na (Tabela 8), estas não mostraram efeito significativo (p<0,05) a diferentes concentrações de GA₃.

Tabela 8: Valores médios de número de folhas (NF), presença de raízes (PR), presença de calos (PC) e peso seco (PS) de *C. betacea* cultivada *in vitro* sob diferentes concentrações de GA₃

Concentração de GA ₃ (mg L ⁻¹)	Médias			
	NF	PR	PC	PS
0	7.16 a*	4.12 a	0.00 a	0.02 a
0,25	7.41 a	4.58 a	0.00 a	0.02 a
0,50	7.91 a	4.58 a	0.04 a	0.02 a
1,00	8.04 a	4.62 a	0.08 a	0.03 a
2,00	8.33 a	5.54 a	0.29 a	0.03 a
CV (%)	19.49	32.09	232.38	38.04

Fonte: Autor 2019

* Médias seguidas de mesma letra na coluna para cada variável não diferem entre si pelo teste de Scott e Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Para Simões et al. (2012), em estudos com pimenta longa, constatou-se que a adição gradual de GA₃ no meio de cultura acarreta o desenvolvimento de um menor número de folhas até a concentração de 3,0 mg L⁻¹, sendo que valores a mais que esta dosagem tendem a aumentar

o número de folhas desta espécie. No estudo de Menezes et al. (2010), também se afirma que o maior número de folhas foi obtido na concentração de 0,25 mg L⁻¹ de GA₃, trabalhando-se com a variedade “Pedro Sato” de goiabeira.

Vidal et al. (2013), estudando a multiplicação *in vitro* com plantas de mamoeiro, relataram que se deve utilizar GA₃ para diminuir a formação de calos que inibem o processo da multiplicação, devido ao bloqueio da conexão entre o sistema radicular e a parte aérea. Estes autores ainda mencionam que a variável peso seco teve uma redução em seu valor quando aumentou para a concentração de 4,0 mg L⁻¹ de GA₃.

6. CONCLUSÃO

Para o ensaio de sacarose, a concentração de 30 g L⁻¹, padrão do meio MS, foi a que proporcionou maior número de folhas, nós, comprimentos de brotos e altura de plântulas de *C. betacea*.

Para o ensaio de GA₃, as concentrações estudadas não proporcionaram alterações significativas para nenhuma das variáveis avaliadas na planta de *C. betacea*, sendo necessários novos testes com concentrações maiores de GA₃, para verificar realmente qual a influência deste fitormônio no crescimento de *C. betacea*.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA-QUEZADA, P.G.; MARTINEZ-LABORDE, J.B.; PROHENS, J. Variação entre tomateiro (*Solanum betaceum* Cav.) Acessos de diferentes grupos de cultivares: implicações para a conservação de recursos genéticos e melhoramento. IN: **Genetic Resources and Crop Evolution** 58: P. 943-960. 2011.

ANDRADE, S. R. M. **Princípios da cultura de tecidos vegetais**. 1ª Edição. Planaltina: Embrapa cerrados, P. 16. 2002.

BADR, A; ANGERS, P.; DESJARDINS, Y. Metabolic profiling of photoautotrophic and photomixotrophic potato plantlets (*Solanum tuberosum*) provides new insights into acclimatization. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.107, n.1, p.13-24, 2011.

BAKSHI. Tamarillo (*Cyphomandra betacea*). In: GOSH. Culturas de frutas subutilizadas: importância e cultivo. **Jaya Publishing House**; 1ª edição. p.1271-1291, 2017.

BANDINELLI, M.G.; BISOGNIN, D.A.; GNOCATO F.S.; MAMBRIN R.B; SAUSEN, D; NICOLOSO, F.T. 2013. Concentração dos sais e da sacarose do meio MS na multiplicação *in vitro* e na aclimatização de batata. **Horticultura Brasileira**, v.31, n.2, p. 242-247, 2013.

BARRUETO CID, L. P. Plant regeneration from seedling explants of *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. **Plant Cell, Tissue and organ Culture**, The Hague, v. 56, p. 17-23, 1999.

BESSON, J. C. F. Fontes e concentrações de carboidratos no crescimento vegetativo e no enraizamento *in vitro* de *Miltonia flavescens* Lindl. **Revista Brasileira de Biociências**, v.8, n.1, p.9- 13, 2010. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1237/904>>. Acesso em: 16 out. 2019.

BOHS, L. Ethnobotany of the genus *Cyphomandra* (*Solanaceae*). **Economic Botany**, v.43, n. 2, p. 143-163, 1989.

BORKOWSKA, B.; SZCZERBA, J. Influence of different carbon sources on invertase activity and growth of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) shoot cultures. *Journal of Experimental Botany*, **Oxford**, v. 42, n. 240, p. 911-915, 1991.

BRAUN, H.; LOPES, J.C.; SOUZA, L.T.; SCHMILDT, E.R.; CAVATTE, R.P.Q.; CAVATTE, P.C. Germinação *in vitro* de sementes de beterraba tratadas com ácido giberélico em diferentes concentrações de sacarose no meio de cultura. **Semina: Ciências Agrárias**, v.31, n.3, p.539-546, 2010.

CALDAS, L. S; HARIDASAN, P; FERREIRA, M. E – Meio Nutritivo. IN: Torres, A. C; Caldas, L. S; Buso, J. A. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. Brasília: Embrapa-SP / Embrapa-CNPH. 2v (864p); il, 1998.

CALVETE EO; KÄMPF AN; SUZIN M. Concentração de sacarose no enraizamento *in vitro* de morangueiro. *Horticultura Brasileira*, v.20: 186-191. 2002.

CANHOTO, J. M. **Biotecnologia Vegetal da Clonagem de Plantas à Transformação Genética**. Imprensa da Universidade de Coimbra. Coimbra. p. 407, 2010.

CHADON-CERDAS, R.; MORA, D.F.; ALVARADO-MARCHENA, L.; SCHIMIDT-DURAN, A.; ALVARADO-ULLOA, C. Cultivo *in vitro* del tomate de arbol (*Cyphomandra betacea* (Cav.)Sendt. (Fenotipo naranja) proveniente da Costa Rica. In: **Tecnologia em Marcha**. VI Encuentro de Investigacion y Extencion. p. 45-55. 2014.

CID, P. B (ED). **Cultivo in vitro de Plantas**. 3. ed. ampl. – Brasília, DF: Embrapa, 325 p.: 2010.

CORREIA, S.I & CANHOTO J.M. Biotechnology of tamarillo (*Cyphomandra betacea*): from *in vitro* cloning to genetic transformation. **Scientia Horticulturae** 148: P. 161–168, 2012.

COSTA, S.I; FARIA, R. M; NARDELLO, I.C. Multiplicação *in vitro* de Tamarillo. **14ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa Congrega**. p. 7. 2017. Disponível em <file:///C:/Users/mathe/Downloads/1546-6593-1-PB.pdf> Acesso em 16 de out. 2019.

DE RIEK, J.; PIQUERAS, A.; DEBERGH PC. Sucrose uptake and metabolim in a double layer system for micropropagation of *Rosa multiflora*. **Plant cell, Tissue and Organ culture** 47: P. 269-278, 1997.

DINIS, J. D, N; ALMEIDA, J. L; TEIXEIRA, AL. A; GOMES, E. S. ÁCIDO GIBERÉLICO (GA3) E 6-BENZILAMINOPURINA (BAP) NO CRESCIMENTO *IN VITRO* DE MACELA [*Egletes viscosa* (L.) Less. **Ciênc. agrotec.**, Lavras. V.27, n.4, p.934-938, jul./ago., 2003. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/cagro/v27n4/v27n4a28.pdf> >. Acesso em 16 out. 2019.

DURANT, A. A.; RODRÍGUEZ, C.; SANTANA, A. I.; HERRERO, C.; RODRÍGUEZ, J.C.; GUPTA, M.P. Analysis of Volatile Compounds from *Solanum betaceum* (Cav.) Fruits from Panama by Head-Space Micro Extraction. **Record Natural Products**, p. 15-26, 2013.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA. ISSN 1517-3135: 61ISSN1517-3135 Dezembro, 2008 Manual de Procedimentos do Laboratório de Cultura de **Tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental**. Manaus, 2008. 48 p. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/47132/1/Doc-61-A5.pdf>>. Acesso em: 31 mar. 2019.

ERIG, A. C.; SCHUCH, M.W. Micropropagação fotoautotrófica e uso da luz natural. **Ciência Rural**, v.35, p.961-965, 2005.

FARIA, G. A. EFEITO DA SACAROSE E SORBITOL NA CONSERVAÇÃO *IN VITRO* DE *Passiflora giberti* N. E. Brown1. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 28, n. 2, p. 267-270, Agosto 2006. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/rbf/v28n2/a25v28n2.pdf>>. Acesso em 15 out. 2019.

FERREIRA, Daniel Furtado. Sisvar: um sistema de análise estatística por computador. **Ciênc. agrotec.** , Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, dezembro de 2011. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542011000600001&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 07 de novembro de 2019.

FIGUEIREDO, S. F. L.; ALBARELLO, N.; VIANA, V. R. C. Micropropagation of *Rollinia mucosa* (Jacq.) baill *in vitro* cellular & developmental. **Biology Plant**, Wallingford, v. 37, n. 4, p. 471-475, 2001.

GALDIANO JUNIOR, R.F.; MANTOVANI, C.; PIVETTA, K.F.L.; LEMOS, E. G.M. Crescimento *in vitro* e aclimatização de *Cattleya loddigesii* Lindley (*Orchidaceae*) com carvão ativado sob dois espectros luminosos. **Ciência Rural**, v.42, n.5, p. 801- 807, 2012.

GALDIANO JUNIOR. Concentrações de sacarose no desenvolvimento *in vitro* e na aclimatização de *Cattleya loddigesii* Lindley. **Semina: Ciências Agrárias**, v.34, n.2, p.583-592, 2013a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n2p583>>. Acesso em: 15 out. 2019.

GATITA, I. & ALMEIDA, J. Micropropagación del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn.), *Solanaceae* silvestre usada en la alimentación humana. **Revista Forestal Venezolana** 47: P. 9-13, 2003.

LISTER, C. E; MORISSON; KERKHOFS & WRIGHT. The nutritional composition and health benefits of New Zealand tamarillos. **Crop e Food Research Confidential Report**, n. 1281, p. 29, 2005.

MC COWN, B. H. Adventitious rooting of tissue cultured plants. IN: DAVIS, T.; HAISSIG, B.E.; SANKLA, N. (Eds.). **Adventitious root formation in cuttings**. Portland-Oregon: Dioscorides. v. 2, p. 289-299, 1988.

MENEZES, T. P; RODRIGUES, F. A; ASMAR, S. A; PASQUAL, M. SACAROSE E GA3 NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E NO DESENVOLVIMENTO *in vitro* DE PLÂNTULAS DE GOIABEIRA ‘PEDRO SATO. **Plant Cell Cult. Micropropag.**, Lavras, v.6, n.2, p. 69-75, 2010.

MOHAMED, M. A. H.; ALSADON, A. A. Influence of ventilation and sucrose on growth and leaf anatomy of micropropagated potato plantlets. **Scientia Horticulturae**, v.123, n.3, p.295-300, 2010.

MORTON, J. Tree tomato: *Cyphomandra betacea* Sendt.; *Cyphomandra hartwegi* Sendt.; *Solanum betaceum* Cav. **Fruits of warm climates**, Julia F. Morton, Miami, Fl., p. 437-440, 1987.

MUKURALINDA, A; MTAGANDA, A; TWAGINAYEZU, D; KIPTOT, E; MUTHURI, C; MUSANA, B. S. *Cyphomandra betacea*. Word Agroforestry Centre. 2016.

MUÑOZ & VICTOR A. Tamarillo (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt.). **Facultad de Ciencias Agronómicas** de la Universidad de Chile.<http://www.provar.uchile.cl/doc/TAMARILLO%202011.pdf>, 2013

MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. A revised medium for a rapid growth and bioassays with tobacco tissues cultures. **Plant Physiology**, v.15, p. 473-479,1962.

NAGAO, E. O. Efeitos da sacarose, nitrogênio inorgânico e ácido indolbutírico na propagação *in vitro* do porta-enxerto *Poncirus trifoliata* (L.) **Raf. UFLA**, Lavras, 56p, 1993.

PAIVA, R; PAIVA, P. D. O. **Cultura de tecidos**. Lavras: UFLA/FAEPE, P. 97. 2001.

PASQUAL, M. Meios de cultura. In: PASQUAL, M. **Cultura de tecidos vegetais**. Lavras-Mg: UFLA/FAEPE, 2001. V.1, 74p, 2001.

RIBEIRO, M. N. O.; PASQUAL. M.; CAVALLARI, L.L. DESENVOLVIMENTO *IN VITRO* DE COPO-DE-LEITE: EFEITO DAS CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE E DE ÁCIDO GIBERÉLICO. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 575-580, jul./set. 2009. Disponível em: <
<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/42554/WOS000208626800007.pdf;sequence=1> >. Acesso em 16 out. 2019.

ROBLES, J; HASHIMOTO, J. **Tomate de árbol** (*Cyphomandra betacea* Sendt.). Trujillo, P. 8. 2006.

RODRIGUES, C.; VANDENBERGHE, L. P. S.; TEODORO, J. F.; PANDEY A.; SOCCOL, C. R. A new alternative to produce gibberellic acid by solid state fermentation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 52, p. 181-188, 2009.

RODRIGUES, T de J. D.; LEITE, I. C. **Fisiologia vegetal – hormônios das plantas**. Jaboticabal: Funep. 2004.

SIMÕES, M.A; VASCONCELOS, J. M; OLIVEIRA, J. P; BELTRÃO, R. T; MANFIO, C. E; FERMINO JUNIOR, PC. P. Efeito do ácido giberélico (ag3) no alongamento in vitro de plântulas de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) Durante a Micropropagação. *Amazônia: Ci. & Desenv*, Belém, v. 7, n. 14, jan./jun. 2012.

SOARES, J. D. R.; ARAÚJO, A. G.; PASQUAL, M. RODRIGUES, F. A & Assis, F. A. Concentrações de sais do meio Knudson C e de ácido giberélico no crescimento *in vitro* de plântulas de orquídea. **Ciência Rural**, 39: P. 772-777, 2009.

TAIZ, L., ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Artmed, Porto Alegre, Brasil. 820p., 2008.

THORPE, T. The components of plant tissue culture media II: organic additions, osmotic and pH effects and support systems. In: GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture**. 3. ed. Netherland: Springer. V.1, 501p, 2008.

TUDZYNSKI B. Biosynthesis of gibberellins in *gibberella fujikuroi*: biomolecular aspects. **Appl. Microbiol. Biotn**, v. 52, n. 3, p. 298-310,1999.

VASIL, V.; HILDEBRANDT, A. C. Differentiation of tobacco plants from single, isolated cells in microcultures. **Science**, Washington, v. 150, p 889-892, 1965.

VIDAL, F. R; DINIZ, JD. N; SILVA, F. P. Multiplicação in vitro de plantas juvenis de mamoeiro. e-ISSN 1983-4063 - www.agro.ufg.br/pat - **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 43, n. 1, p. 64-70, jan./mar. 2013.

WOODWARD, A. D.; BARTEL, B. Auxin: regulation, action and interaction. **Annals of Botanic**, London, v. 95, p. 707-735, 2005.