

Respostas morfogênicas de tomateiro cultivado *in vitro*¹

Morphogenetic responses of tomato cultivated *in vitro*

Neiliane Santiago Sombra Borges², Abdellatif K. Benbadis³ e Cláudia Araújo Marco⁴

RESUMO

Os potenciais morfogênicos dos explantes são diversamente distribuídos nas espécies e cultivares de tomate. Com o objetivo de estudar a germinação e as respostas morfogênicas *in vitro* de três cultivares de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill): “Diva”, “Carmem” e “Thomas” e diferentes explantes na presença de TDZ; dois experimentos foram conduzidos em laboratório, utilizando como fonte de explante material germinado *in vitro*. O primeiro experimento constou da avaliação de percentagem de germinação de três cultivares de tomate em meio de cultura, suplementado ou não com 10 µM de TDZ e das respostas desse material após a germinação. O segundo experimento avaliou a indução de respostas morfogênicas em explantes de diferentes partes da planta em cada uma das três cultivares, na presença de 10 µM de TDZ. Os resultados indicaram que não houve diferença na germinação das três cultivares testadas e que o TDZ beneficiou a germinação. A cultivar Carmem foi a que apresentou os melhores resultados para formação de calos e a cultivar Thomas foi a que apresentou maior formação de brotos, ambos na presença de TDZ. Para todas as cultivares testadas, verificou-se respostas morfogênicas na região hipocotiledonar e na presença de TDZ.

Termos para indexação: *Lycopersicon esculentum*, germinação, cultivo *in vitro*.

ABSTRACT

The morphogenetic potential of explants are diversity distribute in species and cultivars of tomato. With the objective of studying the *in vitro* germination and morphogenetic responses of three cultivars of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill), “Diva”, “Carmem” and “Thomas” and different explants in the presence of TDZ, two experiments were conducted, in laboratory, using as source of explant material germinated *in vitro*. The first experiment evaluated the percentage of germination of three cultivars of tomato in culture medium supplemented or not with 10 µM of TDZ, and the responses of the material after the germination. The second experiment evaluated the induction of morphogenetic responses in explants of different parts of the plant in each one of the three cultivars, in the presence of 10 µM of TDZ. It was not observed differences in the seed germination of the cultivars and TDZ has benefitted the germination and the responses after the germination. “Carmem” was the one that presented better results for formation of calluses and “Thomas” the one that bigger introduced formation of shoot, both in the presence of TDZ. For all cultivars tested, it was verified morphogenetic responses in the hypocotyledonary area and in presence of TDZ.

Index terms: *Lycopersicon esculentum*, germination, *in vitro* cultivation.

¹ Recebido para publicação em: 04/03/2004.

Aprovado em: 06/12/2004.

Parte da dissertação defendida para obtenção do título de mestre da Universidade Federal do Ceará.

² Aluna de doutorado da UFC, em Fitotecnia, bolsista da FUNCAP, nssborges@bol.com.br

³ Doutorado em Biologia, professor visitante da UFC, Departamento de Fitotecnia imungu@ufc.com.br

⁴ Doutorado em Agronomia, professora substituta da UFC, Departamento de Fitotecnia clmarco@terra.com.br

Introdução

As técnicas de cultura de tecidos de plantas têm sido empregadas de diferentes formas no desenvolvimento de espécies vegetais superiores. Em geral, essas técnicas são utilizadas em alguma etapa do melhoramento, não necessariamente no desenvolvimento direto de novos cultivares, oferecendo novas alternativas aos programas de melhoramento em suas diferentes fases e, muitas vezes, oferecendo soluções únicas (Torres et al., 1998).

As potencialidades morfo-genéticas são diversamente distribuídas nas espécies e variedades de *Lycopersicon*. Embora inúmeros ensaios tenham sido conduzidos *in vitro*, utilizando como explantes calos, embriões, raízes, folhas, hipocótilos, meristemas, anteras e protoplastos (Kut et al., 1984); resultados marcantes começaram a serem publicados quando foram utilizados como explantes folhas e protoplastos de folhas de espécies selvagens de *Lycopersicon*, tanto para a regeneração como para a transformação genética (Montagno et al., 1991; Stommel e Sinden, 1991; Lefrancois e Chupeau, 1993; Hamza e Chupeau, 1993).

Os tecidos em cultura *in vitro* necessitam da presença de reguladores de crescimento. A natureza dos hormônios e as combinações dependem do padrão de desenvolvimento do explante (Caldas et al., 1998). Segundo Murthy e Saxena (1998), a presença de TDZ proporcionou um efeito positivo na germinação de várias plantas. Em sementes de *Phaseolus vulgaris*, o efeito do pré-tratamento dessas sementes em 10 μ M de TDZ, proporcionou uma boa percentagem de germinação (50%), havendo interação dessa citocinina com a luz, temperatura e umidade controladas (Carvalho et al., 2000). A percentagem de germinação também foi aumentada em sementes de *Carica papaya* na presença de TDZ no meio de cultura (Bhattacharya e Khuspe, 2001).

Segundo Carvalho et al. (2000), para a fase de proliferação de calos, o meio de cultura MS suplementado com 10 μ M de TDZ foi o que apresentou maiores percentagens de calos na zona de hipocótilo em *Phaseolus vulgaris* L. Entretanto, as quantidades de calos produzidos não estão diretamente relacionadas com o potencial morfo-genético do explante para regenerar brotos (Kut et al., 1984).

O objetivo do presente trabalho foi estudar a germinação e as respostas morfo-genéticas *in vitro*

de três cultivares de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill): “Diva”, “Carmem” e “Thomas” e diferentes explantes na presença de TDZ.

Material e Métodos

A pesquisa foi desenvolvida no período de agosto de 2001 a julho de 2002, no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza-CE, Brasil.

O material utilizado como fonte de explante para o estudo foi obtido a partir de plântulas germinadas asépticamente *in vitro*. Como explantes foram utilizados: folhas jovens, hipocótilo, pecíolo, ápices radiculares e calos pré-existent.

Efeito do TDZ na germinação e crescimento *in vitro* do tomateiro

Inicialmente, preparou-se o meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962) com as concentrações salinas reduzidas pela metade. A formulação foi solidificada com 0,4% (p/v) de ágar. Adicionou-se ao meio de cultura a citocinina 1-fenil 3-(1,2,3-tiadiazol-5il) uréia (thidiazuron) (TDZ) na concentração de 10 μ M.

Distribuiu-se 10 mL do meio de cultura em tubos de ensaio (2,5 cm de diâmetro e 15 cm de altura) os quais foram vedados com tampas plásticas. O pH do meio foi ajustado para 5,7 antes da esterilização em autoclave a 120°C por 15 minutos.

Após o preparo do meio de cultura, as sementes das três cultivares de tomate: “Carmem”, “Diva” e “Thomas” foram lavadas em água corrente e detergente comercial por dez minutos. Subseqüentemente, a superfície foi esterilizada em câmara de fluxo laminar, com a imersão em álcool etílico a 70% (v/v) por dois minutos e, em seguida, em solução de hipoclorito de sódio a 2% (v/v) por 15 minutos, sob agitação. Posteriormente, foram lavadas por três vezes em água destilada e autoclavada.

As sementes assépticas foram inoculadas em 10 mL de meio de cultura MS inicialmente preparado, na ausência e presença de 10 μ M de TDZ. Durante os primeiros sete dias de inoculação as culturas foram mantidas no escuro, sendo posterior-

mente transferidas para a luz, onde permaneceram por 65 dias em sala de crescimento com temperatura de $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas e luminosidade de 2500 lux.

O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 2 (3 cultivares e ausência e presença de TDZ) e quatro repetições. Cada unidade experimental foi constituída de cinco tubos de ensaio, contendo um explante cada.

Aos 20 dias de cultivo avaliou-se a percentagem de germinação e aos 65 dias o aspecto geral da planta, a percentagem de calos basais pré-existentes, a percentagem de brotos adventícios, a percentagem de enraizamento e a altura da parte aérea (cm).

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e a comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância e o programa utilizado foi o Sanest.

Avaliação das respostas morfogênicas *in vitro* de diferentes explantes do tomateiro.

A partir das plântulas provenientes da etapa de germinação *in vitro*, explantes constituídos de finas camadas obtidos a partir de cortes transversais de 0,5 cm de comprimento foram excisados de hipocótilo, pecíolo, folhas e raiz. Em seguida, inocularam-se os explantes, dispostos horizontalmente em placa de Petri contendo 20 mL do mesmo meio de cultura citado na fase de germinação. O pH foi ajustado para 5,7 antes da esterilização em autoclave a 120°C durante 15 minutos. Além desses explantes, também foram subcultivados calos basais pré-existentes durante a germinação das sementes. Nessa fase, o intervalo de subcultivos foi de 30 dias durante dois meses, utilizando o meio de cultura $\frac{1}{2}$ MS, suplementado com $10 \mu\text{M}$ de TDZ. As culturas permaneceram em sala de crescimento em ambiente controlado como já citado anteriormente.

As variáveis estudadas aos 60 dias, dentro de cada cultivar foram: percentagem de explantes com respostas morfogênicas, percentagem de explantes com calos, desenvolvimento morfogênico dos calos, percentagem de brotos regenerados e percentagem de explantes com raízes.

Para avaliação do desenvolvimento morfogênico dos calos, foi estabelecido uma escala de notas: nota 1 para os calos com pouco desenvolvimento morfogênico, nota 2 para calos com

bom desenvolvimento e nota 3 para os calos com excelente desenvolvimento.

O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 5 (3 cultivares x 5 tipos de explantes) e quatro repetições. Cada unidade experimental foi constituída de uma placa de petri contendo cinco explantes.

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e a comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, sendo que os valores de percentagem de germinação foram transformados seguindo o $\text{Arcsen} \sqrt{x/100}$.

Resultados e Discussão

Efeito do TDZ na germinação e crescimento *in vitro* do tomateiro.

Houve interação significativa do TDZ e cultivares para a percentagem de calos basais. Detectou-se que nas três cultivares houve produção de calos basais somente na presença de $10 \mu\text{M}$ de TDZ, tendo a cultivar Carmem alcançado a maior média de percentagem de calos (100%), seguida da cultivar Thomas com 80% de calos e por último a cultivar Diva com apenas 50% de calos basais (Tabela 1). Na ausência do TDZ, não ocorreu formação de calos basais nas três cultivares. Neste caso, a ação negativa do suprimento de citocinina (testemunha) foi bastante evidente em relação à presença do TDZ. Assemelhando-se a esses dados, a percentagem de germinação também foi aumentada em sementes de *Carica papaya* L. (77%) na presença de TDZ no meio de cultura (Bhattacharya e Khuspe, 2001) e em *Phaseolus vulgaris* L. (50%) (Carvalho et al., 2000).

Tabela 1 - Percentagem de calos basais (CB), aos 65 dias de cultivo *in vitro* em meio $\frac{1}{2}$ MS com TDZ (0 e $10 \mu\text{M}$) em diferentes cultivares de *Lycopersicon esculentum* Mill. (Diva, Carmem e Thomas). Fortaleza-CE, Brasil, 2001.

TDZ	CB (%)		
	Diva	Carmem	Thomas
0 μM	0,00 b A	0,00 b A	0,00 b A
10 μM	50,00 a C	100,00 a A	80,00 a B

Médias seguidas por letras distintas minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem entre si ao nível de 1% pelo teste Tukey. D.M.S. 1% = 12,34 (colunas) e D.M.S. 1% = 14,91 (linhas).

Posterior à formação de calos friáveis na base das plântulas, foi observada a regeneração de brotos (60,96%) apenas na cultivar Thomas e na presença de 10 μ M de TDZ (Tabela 2).

Tabela 2 - Percentagem de brotos regenerados (Br) aos 65 dias de cultivo *in vitro* em meio 1/2 MS com TDZ (0 e 10 μ M) em diferentes cultivares de *Lycopersicon esculentum* Mill. (Diva, Carmem e Thomas). Fortaleza-CE, Brasil, 2001.

TDZ	Br (%)		
	Diva	Carmem	Thomas
0 μ M	0,00 a A	0,00 a A	0,00 b A
10 μ M	0,00 a B	0,00 a B	60,96 a A

Médias seguidas por letras distintas minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem entre si ao nível de 1% pelo teste Tukey. D.M.S. 1% = 25,88 (colunas) e D.M.S. 1% = 31,27 (linhas).

Os resultados indicaram para a fase de alongamento das plântulas, que o regulador de crescimento utilizado não afetou a altura das plantas nas três cultivares testadas de modo significativo, sugerindo o suprimento desse tratamento nesta fase. Sendo que as cultivares apresentaram, em média, 4,5 cm de altura aos 65 dias após a inoculação.

Com relação a variável percentagem de raízes, não foi feita nenhuma análise de variância porque a percentagem foi de 100% para as três cultivares na ausência e na presença de TDZ. As raízes caracterizavam-se por serem finas, compridas e bastante desenvolvidas. Portanto, na fase de alongamento e enraizamento, essa citocinina pode ser eliminada do meio de cultura.

Avaliação das respostas morfogênicas *in vitro* de diferentes explantes do tomateiro.

A resposta morfogênica inicial observada nessa fase foi o intumescimento dos explantes nas três cultivares após uma semana de cultivo *in vitro*. Verificou-se que a formação de calos começou a partir das bordas dos explantes onde ocorreu o ferimento (corte com bisturi). Já na segunda semana, observou-se a formação de brotos e raízes a partir de calos friáveis dos explantes na presença de 10 μ M de TDZ no meio de cultura. Para todas as variáveis analisadas, houve interação significativa entre os fatores cultivar e explante, exceto para a variável percentagem de explantes com respostas morfogênicas, onde apenas o fator explante foi significativo.

Para a cultivar Diva, os explantes provenientes do hipocótilo, das folhas e da raiz não se diferenciaram estatisticamente, apresentando respostas morfogênicas superiores aos pecíolos e aos calos. Na cultivar Carmem, os hipocótilos e as folhas apresentaram um bom potencial morfogênico. Na cultivar Thomas, os explantes obtidos a partir de hipocótilo, pecíolo e raiz apresentaram um bom desempenho (Tabela 3). O explante hipocotiledonar apresentou excelente formação de calos nas três cultivares estudadas (100%). Bandyopadhyay et al. (1999) observaram maior percentagem de explantes com respostas morfogênicas em segmentos do hipocótilo de eucalipto.

Tabela 3- Percentagem de explantes com respostas morfogênicas (ERM), aos 60 dias, em três cultivares e cinco explantes de *Lycopersicon esculentum* Mill, cultivados *in vitro*. Fortaleza-CE, Brasil, 2001.

Explante	ERM		
	Diva	Carmem	Thomas
Hipocótilo	100,0 a A	100,0 a A	100,0 a A
Pecíolo	46,6 b B	6,0 b B	93,2 a A
Folhas	100,0 a A	100,0 a A	40,0 c B
Raiz	86,6 a A	0,0 c B	80,0 abA
Calo	40,0 b A	66,6 abA	53,2 bcA

Médias seguidas por letras distintas minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem entre si ao nível de 5% pelo teste Tukey. Para o tomate, D.M.S. 5% = 0,98 (colunas) e D.M.S. 5% = 0,64 (linhas). Para Diva, Carmem e Thomas, D.M.S. 5% = 1,69 (colunas) e D.M.S. 5% = 1,44 (linhas).

As diferenças encontradas reforçam a necessidade de aprofundar os estudos sobre a competência organogênica, ou seja, a capacidade de responder ao estímulo hormonal necessário à indução da formação do órgão. Segundo Peres (2002), as diferenças significativas na capacidade organogênica *in vitro* são dependentes de três fatores, que podem ter grande influência sobre as respostas. Fatores intrínsecos, ou seja, fatores ligados à planta, como o genótipo e a natureza do explante (órgãos embrionários, jovens ou adultos); fatores ligados às condições de cultivo *in vitro*, como os componentes minerais e orgânicos do meio de cultivo (vitaminas e fonte de açúcares), natureza e concentrações de reguladores de crescimento, e fatores físicos ambientais, como a luz e a temperatura. Entretanto, Peres e Kerbauy (1999), associam a

falta dessa competência ao próprio metabolismo hormonal do explante, pois é ele que determinará o balanço hormonal endógeno para a indução da organogênese. Cary et al. (2001) afirmam que a falta de competência de um tecido poderia refletir, portanto, a falta de receptores para a classe hormonal que irá induzir o processo organogênético.

Através da Tabela 4, verifica-se que a formação de calos foi observada na maioria dos explantes, não sendo favorecida dentro das cultivares Diva e Thomas, não havendo diferença estatística entre os tipos de explantes dentro dessas cultivares. Na cultivar Carmem, o hipocótilo, pecíolo e calos não diferenciaram estatisticamente entre si, apresentando uma excelente percentagem de explantes com calos (100%). Assemelhando-se a esses dados, Ulrich e Mackinney (1969) citado por Kut et al. (1984), obtiveram maiores percentagens de formação de calos de tomate em explantes provenientes do hipocótilo e caule.

Tabela 4 - Percentagem de explantes com calos (EC), aos 60 dias, em três cultivares e cinco explantes de *Lycopersicon esculentum* Mill, cultivados *in vitro*. Fortaleza-CE, Brasil, 2001.

Explante	EC (%)		
	Diva	Carmem	Thomas
Hipocótilo	100,0 a A	100,0 a A	100,0 a A
Pecíolo	100,0 a A	100,0 a A	100,0 a A
Folha	100,0 a A	87,0 b C	98,8 a B
Raiz	100,0 a A	0,0 c B	100,0 a A
Calo	100,0 a A	100,0 a A	100,0 a A

Médias seguidas por letras distintas minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem entre si ao nível de 1% (coluna) e a 5% (linhas) pelo teste Tukey. D.M.S. 1% = 8,76 (colunas) e D.M.S. 5% = 6,05 (linhas).

Para a cultivar Diva, o hipocótilo, a raiz e os calos apresentaram as maiores notas de desenvolvimento morfogênético dos calos em relação ao pecíolo e as folhas. Na cultivar Carmem, essas notas foram incrementadas para o hipocótilo, pecíolo e calos. A cultivar Thomas foi semelhante a cultivar Carmem, além das raízes terem apresentado um bom desempenho (Tabela 5).

Apesar das três cultivares de tomate obterem grande percentagem de explantes que produziram calos, isso não implica que estes explantes irão apre-

sentar grande percentagem de formação de brotos. Kut et al. (1984), afirmam que as quantidades de calos produzidos não estão diretamente relacionadas com o potencial morfogênético do explante e que algumas variedades de tomate que produziram maior crescimento de calos não obtiveram alta eficiência na regeneração de brotos. Skoog e Miller (1957), citado por Peres (2002), afirmam que quanto maior for a determinação de um explante para uma via de desenvolvimento (por exemplo, a formação de raízes), menor será a competência para formar outro tipo de órgão (por exemplo, gemas caulinares).

Tabela 5 - Notas de desenvolvimento morfogênético dos calos (NDMC), aos 60 dias, em três cultivares e cinco explantes de *Lycopersicon esculentum* Mill, cultivada *in vitro*. Fortaleza-CE, Brasil, 2001.

Explante	NDMC		
	Diva	Carmem	Thomas
Hipocótilo	3,93 a A	2,16 a B	3,26 a A
Pecíolo	2,06 b A	2,53 a A	2,70 a A
Folha	1,83 b A	1,06 b A	1,33 b A
Raiz	3,83 a A	0,00 c C	2,50 a B
Calo	3,16 a A	3,00 a A	2,43 a A

Notas dos calos: calos com pouco desenvolvimento morfogênético (nota 1), calos com bom desenvolvimento (nota 2) e calos com excelente desenvolvimento (nota 3). Médias seguidas por letras distintas minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem entre si ao nível de 5% (colunas e linhas) pelo teste Tukey. D.M.S. 5% = 1,01 (colunas) e D.M.S. 5% = 0,86 (linhas).

Observou-se uma baixa percentagem de regeneração de brotos, principalmente na cultivar Thomas, apesar das cultivares terem apresentado uma boa formação de calos (Tabela 6). Possivelmente, esta baixa percentagem de brotos regenerados deve-se ao genótipo e ao regulador de crescimento utilizado, dentre outros fatores que inibem ou limitam a formação de brotos, como sugere Kut et al. (1984). Esses autores relatam que fatores como tipo e concentração dos reguladores de crescimento nos meios de cultivos, condições de crescimento da planta doadora, idade da planta doadora, escolha do explante, porção ou época do tecido doador e genótipo da planta doadora, influenciam na regeneração de brotos de *Lycopersicon esculentum*.

Para a cultivar Diva, o hipocótilo e o pecíolo não diferiram estatisticamente entre si, superando os demais explantes. Na cultivar Carmem, o hipocótilo e os calos apresentaram médias de percentagem de

brotos regenerados de 26% e 33%, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si. Já na cultivar Thomas, apenas o pecíolo diferiu dos demais explantes, com uma média de percentagem de brotos de 8,29%, sendo inferior a média da cultivar Diva.

Tabela 6 - Percentagem de brotos regenerados (Br), aos 60 dias, em três cultivares e cinco explantes de *Lycopersicon esculentum* Mill, cultivada *in vitro*. Fortaleza-CE, Brasil, 2001.

Explante	Br (%)		
	Diva	Carmem	Thomas
Hipocótilo	26,2 a A	26,0 a A	0,0 b B
Pecíolo	33,0 a A	0,0 b C	8,3 a B
Folha	0,0 b	0,0 b A	0,0 b A
Raiz	0,0 b A	0,0 b A	0,0 b A
Calo	0,0 b B	33,0 a A	0,7 b B

Médias seguidas por letras distintas minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem entre si ao nível de 1% (colunas e linhas) pelo teste Tukey. D.M.S. 1% = 8,35 (colunas) e D.M.S. 1% = 7,37 (linhas).

Os explantes de folhas e raízes não regeneraram brotos em nenhuma das cultivares testadas. É provável que tenha ocorrido uma falha de competência no genótipo desses explantes, perdendo a sua capacidade de regeneração. Peres (2002), relata que explantes que falham em formar um determinado órgão *in vitro*, por estarem “determinados”, podem ter perdido a capacidade de expressão de “genes mestres” durante um processo intenso de diferenciação sofrido anteriormente. As pesquisas indicam que algumas espécies se diferenciam na capacidade de regeneração *in vitro* sendo controladas por poucos genes. Um exemplo promissor é o tomateiro, cuja alta capacidade de regeneração de algumas espécies selvagens parece ser controlada por um ou dois genes dominantes (Koorneef et al., 1993; Faria e Ilgg, 1996; Peres et al., 2001).

A rizogênese ocorreu tanto na fase de indução de calos quanto na fase de regeneração de brotos. As raízes caracterizavam-se por serem finas, compridas e com bastante desenvolvimento de raízes secundárias. Neste caso, a formação de raízes na base do explante não foi interrompida pela longa exposição dos explantes em meio MS suplementado com 10 µM de TDZ.

Para a cultivar Diva, os explantes hipocótilo e pecíolo apresentaram altas médias para percentagem de raízes. Na cultivar Carmem, a maior média

de enraizamento foi obtida a partir do hipocótilo (100%). Para a cultivar Thomas observou-se as menores percentagens de explantes com raiz, sendo que a raiz e o calo foram os que mostraram melhor desempenho (Tabela 7).

Tabela 7 - Percentagem de explantes com raiz (R), aos 60 dias, em três cultivares e cinco explantes de *Lycopersicon esculentum* Mill, cultivada *in vitro*. Fortaleza-CE, Brasil, 2002.

Explante	R (%)		
	Diva	Carmem	Thomas
Hipocótilo	80,0 ab B	100,0 a A	15,7 a C
Pecíolo	83,7 a A	15,7 b B	13,6 a B
Folha	27,6 cd A	39,3 b A	0,0 b B
Raiz	50,0 bc A	0,0 c B	32,9 a A
Calo	13,2 d A	0,0 c B	33,0 a A

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% (colunas e linhas) pelo teste Tukey. D.M.S. 5% = 18,97 (colunas) e D.M.S. 1% = 16,15 (linhas).

Conclusões

- A adição do TDZ ao meio de cultura aumenta a germinação, o crescimento *in vitro* de sementes do tomateiro, a formação de calos basais nas cultivares Diva, Carmem e Thomas e a regeneração de brotos na cultivar Thomas;

- Explantes oriundos de segmentos do hipocótilo apresentam maior resposta morfogênica nas cultivares Diva, Carmem e Thomas, com a formação de calos;

- O desenvolvimento de brotos a partir de calos oriundos do hipocótilo é observado apenas nas cultivares Diva e Carmem;

- Explantes oriundos do hipocótilo e do pecíolo apresentam capacidade de enraizamento nas três cultivares de tomate.

Referências Bibliográficas

BANDYOPADHYAY, S.; CANE, K.; RASMUSSEN, G.; HAMILL, J. D. Efficient plant regeneration from seedling explants of two commercially important temperate eucalypt species – *Eucalyptus nitens* and *E. globulus*. **Plant Science**, Austrália, v.140, p.189-198, 1999.

- BHATTACHARYA, J.; KHUSPE, S. S. *In vitro* and *in vivo* germination of papaya (*Carica papaya* L.) seeds. **Scientia Horticulturae**, India, v.91, n.1/2, p.39-49, nov. 2001.
- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI / Embrapa-CNPQ, 1998. v.1, p.87-132.
- CARVALHO, M. H. C. DE.; VAN LE, B.; ZUILY-FODIL, Y. H.; THI, A.T. P.; VAN, K. T. T. Efficient whole plant regeneration of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) using thin-cell-layer culture and silver nitrate. **Plant Science**, France, v.159, p.223-232, 2000.
- CARY, A.; UTTAMCHANDANI, S. J.; SMETS, R.; VAN ONCKELEN, H. A.; HOWELL, S. H. Arabidopsis mutants with increased organ regeneration in tissue culture are more competent to respond to hormonal signals. **Planta**, Germany, v.213, n.5, p.700-707, sept. 2001.
- FARIA, R. T.; ILLG, R. D. Inheritance of *in vitro* plant regeneration ability in the tomato. **Brasilian Journal of Genetics**, Brasil, v.19, n.1, p.113-116, 1996.
- HAMZA, S.; CHUPEAU, Y. Reevaluation of conditions for plant-regeneration and agrobacterium-mediated transformation from tomato (*Lycopersicon esculentum*). **Journal of Experimental Botany**, London, v.44, n.269, p.1837-1845, dec. 1993.
- KOORNEEF, M.; BADE, J.; HANHART, C.; HORSMAN, K.; SCHEL, J.; SOPPE, W.; VEKERK, R. & ZABEL, P. Characterization and mapping of a gene controlling shoot regeneration in tomato. **Plant Journal**, London, v.3, n.1, p.131-141, jan. 1993.
- KUT, S. A.; BRAVO, J. E.; EVANS, D. A. Tomato. In: AMMIRATO, P. V.; EVANS, D.; SHARP, W. R.; YAMADA, Y. (Ed.). **Handbook of plant cell culture**. New York: Mc. Millan, v.3, p.247-289, 1984.
- LEFRANCOIS, C.; CHUPEAU, Y. Standard conditions for plant-regeneration from leaf protoplasts of several *Lycopersicon* species. **Journal of Plant Physiology**, London, v.141, n.5, p.629-632, may .1993.
- MONTAGNO, T.J.; JOURDAN, P.S.; BERRY, S.Z. Plant-regeneration from leaf protoplasts of *Lycopersicon hirsutum*. **Plant Cell Reports**, London, v.9, n.12, p.680-683, apr. 1991.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, mar. 1962.
- MURTHY, B.N.S.; SAXENA, P.K. Somatic embryogenesis and plant regeneration of neem (*Azadirachta indica* A. Juss). **Plant Cell Report**, Canada, v.17, p.469-475, apr. 1998.
- PERES, L. E. P.; KERBAUY, G. B. High cytokinin accumulation following root tip excision changes the endogenous auxin-to-cytokinin ratio during root-to-shoot conversion in *Catsetum fimbriatum* Lindl. (Orchidaceae). **Plant Cell Report**, São Paulo, v.18, p.1002-1006, feb. 1999.
- PERES, L. E. P. Bases fisiológicas e genéticas da regeneração de plantas *in vitro*. **Biociência e Desenvolvimento**, Brasília, n.25, p.44-48, mar./abr. 2002.
- PERES, L. E. P.; MORGANTE, P. G.; VECHI, C.; KRAUS, J. E.; VAN SLUYS, M-A. Shoot regeneration capacity from roots and transgenic hairy roots of different tomato cultivars and wild related species. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, São Paulo, v.65, n.1, p.37-44, dec. 2001.
- STOMMEL, J. R.; SINDEN, S. L. Genotypic differences in shoot-forming capacity of cultured leaf explants of *Lycopersicon hirsutum*. **HortScience**, Alexandria, VA, v.26, n.10, p.1317-1320, oct. 1991.
- TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI / Embrapa-CNPQ, 1998. v.1, 509p.