

# Produção de metabólitos secundários por meio da cultura de tecidos vegetais

## Production of secondary metabolites by plant tissue culture

DOI 10.17648/2446-4775.2018.550

Souza, Júlio Cezar de<sup>1</sup>; Rescarolli, Cristine Luciana de Souza<sup>1</sup>; Nunez, Cecília Verônica<sup>1\*</sup>.

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia, Av. André Araújo, 2.936, Petrópolis, CEP 69067-375, Manaus, AM, Brasil.

\*Correspondência: [cecilia@inpa.gov.br](mailto:cecilia@inpa.gov.br)

### Resumo

A técnica de cultura de células e tecidos vegetais *in vitro* tem sido estudada para a produção de plantas e biomassa vegetal com alto padrão de qualidade fitossanitária e genética. Esta técnica baseia-se na capacidade da célula vegetal de praticamente qualquer tecido, de regredir ao seu estado indiferenciado, se multiplicar e/ou redefinir nova via metabólica para tornar-se outro tipo celular, podendo gerar novos tecidos e até mesmo uma nova planta completa. O desenvolvimento vegetal *in vitro* depende da disponibilidade de condições ideais, como a composição do meio de cultura, balanço de reguladores de crescimento, estimulação com elicitores, entre outras. As indústrias farmacêuticas e de produtos naturais tem se beneficiado da biotecnologia vegetal pela possibilidade de produzir metabólitos secundários *in vitro*, produção esta que seria mais vantajosa devido à redução de tempo, qualidade e quantidade de material vegetal a ser extraído pela indústria, quando comparado à produção *in natura*. Segundo diversos estudos mostrados na literatura, a produção destes metabólitos pode ser maior *in vitro* do que nos extratos de plantas de campo.

**Palavras-chave:** Cultura de tecidos vegetais. Calos. Metabólitos secundários. Produção *in vitro*.

### Abstract

The *in vitro* plant cell and tissue culture technique has been studied for the production of plants and plant biomass with high phytosanitary and genetic quality standards. This technique is based on the ability of the plant cell of virtually any tissue to regress to its undifferentiated state and multiply and/or redefine the new metabolic pathway to become another cell type, generating new tissues and even a whole new plant. *In vitro* plant development depends on the availability of ideal conditions, such as composition of the culture medium, growth regulator balance, stimulation with elicitors, among others. The pharmaceutical and natural products industries have benefited from plant biotechnology through the possibility of producing secondary metabolites *in vitro*, which would be more advantageous due to the reduction in the time, quality and quantity of plant material to be extracted by the industry when compared to the *in natura* production. According to

several studies shown in the literature, the production of these metabolites may be higher *in vitro* than in wild plant extracts.

**Keywords:** Plant cell culture. Callus. Secondary metabolites. *In vitro* production.

---

## Introdução

A cultura de tecidos vegetais *in vitro* é uma técnica na qual, em condições assépticas, células, órgãos, tecidos ou mesmo a planta inteira, podem ser mantidos em cultivo em laboratório sob condições controladas de fatores ambientais e nutricionais. Estas condições incluem a oferta adequada de nutrientes, pH, temperatura, fotoperíodo e fonte de carbono <sup>(1)</sup>

Pequenos pedaços de tecido vegetal, denominados explantes (**FIGURA 1**), podem ser retirados de uma planta matriz e utilizados para produzir milhares de novas plantas num processo contínuo, em um período de tempo relativamente curto <sup>(2)</sup>.

**FIGURA 1:** Explantes retirados de folha e de segmento nodal de andiroba (*Carapa guianensis*).



Esta técnica de cultivo vegetal tem sido amplamente estudada desde o início do século XX, com a finalidade de compreender rotas metabólicas primárias e secundárias, além de auxiliar nos estudos relacionados à morfogênese vegetal. No entanto, o potencial medicinal e nutracêutico de plantas oriundas da cultura de tecidos vegetais vêm sendo mais profundamente estudados nos últimos 50 anos <sup>(3,4)</sup>.

## Metodologia

A consulta de fontes bibliográficas foi realizada em livros da área e artigos disponíveis nos bancos de dados como: PubMed, SciELO, SciFinder, Science Direct e Periódicos Capes. As palavras-chave utilizadas na consulta foram: cultivo vegetal, cultura de tecidos vegetais, reguladores de crescimento, calo, metabólitos *in vitro* e elicitores (em português e inglês).

## Revisão bibliográfica

### Cultura de tecidos vegetais *in vitro*

Recentemente, a biotecnologia vegetal vem tornando-se importante para as indústrias farmacêutica e de produtos naturais, através da propagação vegetativa *in vitro*, que permite a eliminação de doenças e o melhoramento genético das plantas. Essa técnica leva à produção de microplantas e/ou biomassa vegetal de excelente qualidade fitossanitária e genética, em curto espaço de tempo e reduzida área física, o que é de extrema importância na produção de metabólitos secundários <sup>(1)</sup>.

Com a crescente demanda por produtos de origem natural contrapondo-se à perda de populações vegetais, à diversidade genética e à degradação do meio ambiente e extinção de espécies, a cultura de tecidos e células vegetais *in vitro* surgiu como uma ferramenta para a produção em larga escala de biomassa vegetal, para diversificados fins <sup>(5)</sup>.

Segundo a literatura<sup>(6)</sup>, a principal motivação para a adoção do cultivo de plantas *in vitro* no setor florestal brasileiro tem sido a pesquisa com a finalidade de aumentar a produção sustentável de madeira e produtos florestais não-madeireiros, incluindo a caracterização genética, manipulação e melhoramento de espécies florestais nativas do Brasil. Segundo os mesmos autores, essências aromáticas, frutas e óleos da Amazônia, utilizados como matérias-primas pelas indústrias químicas de cosméticos, produtos farmacêuticos, inseticidas e fungicidas provenientes de espécies amazônicas podem ser consideradas fontes renováveis de ativos biológicos.

Sendo assim, essa tecnologia deve ser aprimorada constantemente para que seja capaz de suprir a demanda, e sua exploração deve ser feita em uma base sustentável, pois espécies como *Aniba rosaeodora* (pau-rosa) e *Dicypellium caryophyllaceum* (pau-cravo) se encontram na lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção devido ao seu uso indiscriminado<sup>(6,7)</sup>.

### Totipotência celular

A técnica de cultura de tecidos é baseada no conceito de totipotência celular. Essa técnica é caracterizada como:

“[...] a capacidade de uma célula vegetal viva, nucleada, com sistema laminar intacto e já diferenciada, de ser induzida a voltar ao estado meristemático, podendo redefinir seu padrão de diferenciação celular e desenvolver novos órgãos e, até mesmo, indivíduos inteiros” <sup>(8)</sup>.

Todo tecido vegetal que possui células vivas e nucleadas é totipotente e, por assim dizer, pode vir a desenvolver crescimento e/ou diferenciação celular induzida pelo meio. Após uma sinalização correta ao tecido do explante, as células estabelecem um processo contínuo de mitose <sup>(9)</sup>. Juntamente com a totipotência, a capacidade das células para alterar o seu metabolismo, crescimento e desenvolvimento também é igualmente fundamental.

### Meios de cultura e reguladores de crescimento

Para que o potencial da totipotência seja expresso na sua totalidade, é necessário fornecer ao explante as condições nutricionais e a devida sinalização hormonal. É normalmente utilizado como base, o meio de cultura desenvolvido por Murashige e Skoog em 1962<sup>(10)</sup> (meio MS), composto de macronutrientes,

micronutrientes, vitaminas, ferro, EDTA, entre outras substâncias orgânicas, fonte de carbono e a presença ou não de um agente geleificante (para meios sólidos ou semissólidos).

O pH do meio também é importante, pois afeta a absorção dos nutrientes e reguladores de crescimento presentes no meio de cultura. Recomenda-se<sup>(10)</sup> o ajuste do pH entre 5,7 e 5,8, porém, algumas espécies como as bromeliáceas podem ter ajuste de pH entre 6,5 a 7.

Com o passar do tempo, foram feitas suplementações e alterações nos componentes, e novos meios foram surgindo para adequar-se ao metabolismo de diversas espécies vegetais. A manipulação da formulação dos meios de cultura, assim como, das fontes de sacarose, combinações e concentrações de reguladores de crescimento, naturais e/ou sintéticos, além do uso de diversos agentes físicos ou químicos como elicitores, tem sido utilizado para mudanças morfogênicas e acúmulo de metabólitos de interesse<sup>(11)</sup>.

A composição do meio de cultura, especialmente dos reguladores de crescimento, tem efeitos profundos sobre a resposta do explante nas diferentes fases do cultivo *in vitro*. Os reguladores de crescimento são responsáveis pela determinação do desenvolvimento de células, tecidos ou plantas em meio de cultura.

Reguladores de crescimento são um grupo de substâncias de ocorrência natural nos tecidos vegetais e, assim como seus análogos sintéticos, possuem ação de sinalizadores, influenciando os diferentes estágios do desenvolvimento da planta. Para a cultura de células e tecidos vegetais *in vitro*, a utilização de reguladores de crescimento adicionados ao meio de cultura é necessária para garantir que o objetivo do estudo seja alcançado <sup>(12)</sup>.

As auxinas e citocininas são as duas classes de reguladores de crescimento mais utilizadas. A concentração e combinação dos diferentes tipos de auxinas e citocininas para suplementar o meio de cultura, dependem principalmente da espécie da planta, do tipo de tecido ou órgão e do objetivo da pesquisa <sup>(13)</sup>.

As auxinas possuem diversas funções no desenvolvimento vegetal na natureza, entre as quais, o alongamento do caule, dominância apical e o enraizamento, e são amplamente utilizadas nas culturas de células e tecidos por induzir a divisão celular. Na planta, as auxinas são produzidas nas regiões de crescimento celular localizadas nos ápices dos ramos e, em menor quantidade, das raízes, e seu transporte ocorre do topo da planta em direção à base <sup>(14)</sup>.

Já, as citocininas estão envolvidas em processos de divisão celular, proliferação e morfogênese da parte aérea e são utilizadas nas culturas *in vitro* para a regeneração das plantas ou indução de novos ramos. Na planta, a síntese das citocininas ocorre nas raízes e seu transporte é feito da base em direção às partes aéreas <sup>(15,16,12)</sup>.

Estes dois reguladores são, portanto, produzidos em locais diferentes e possuem funções antagônicas. Se houver um equilíbrio entre as concentrações de ambas, ocorrerá o desenvolvimento de uma massa celular indiferenciada comumente chamada de *callus* ou *calo* <sup>(17)</sup>.

### **Produção de calos**

Na natureza, as plantas podem gerar calo em resposta a um estresse, causado por ferimento ou infecção patogênica. A formação de calo, também denominada calogênese, pode também ser induzida *in vitro* por

níveis elevados de reguladores de crescimento, onde ocorre a dediferenciação das células do explante, que são induzidas a retornarem ao estado inicial meristemático (18).

As regiões do explante que sofreram sinalização se estabelecem primeiramente na periferia do explante isolado e, de forma gradativa, em pontos internos do tecido, onde camadas e regiões de crescimento ativo na forma de cunhas passam a se formar e dependendo do balanço dos reguladores de crescimento utilizados no meio de cultura, diversos tipos celulares do explante poderão se dediferenciar, caracterizando assim o novo sistema que passa a ser chamado de calo (9).

O estabelecimento da cultura de calos a partir de explantes (sendo raízes, caules, folhas, flores, etc.) é dividido em três etapas(9,19) (FIGURA 2):

(1) indução: preparação do tecido isolado com a ativação do metabolismo para a dediferenciação e divisão celular (mitose);

(2) divisão propriamente dita: as células dividem-se ativamente em células de tamanho menor, iniciando pelas periféricas e posteriormente ocupando a região central do explante;

(3) dediferenciação: o tecido perde sua identidade histológica, as células tornam-se maiores, vacuolizadas, a taxa de divisão diminui e então ocorre o equilíbrio entre a divisão e a expansão celular.

**FIGURA 2.** Sequência da formação de calo, da periferia para o centro, em explante foliar de andiroba (*Carapa guianensis*). (1) Preparação do tecido, (2) Divisão das células, (3) Dediferenciação celular.



O calo pode ser produzido em resposta a uma injúria física ou química, mas é necessário saber que nem todas as células de um explante formam calo com facilidade ou produzem o metabólito de interesse, por isso a escolha do explante é fundamental para um bom resultado(20). No entanto, é sabido que, os tecidos jovens são mais adequados que os adultos. O parênquima foi descrito(20) como o melhor tecido para o desenvolvimento de calos, pois se trata de um tecido de considerável plasticidade.

A formação de calo é importante na biotecnologia vegetal, podendo ser utilizada na propagação de clones saudáveis de uma determinada espécie, como tem sido estudada para a conservação de espécies ameaçadas de extinção, como o pau-brasil(21) e espécies alimentícias, como o adoçante *Stevia rebaudiana*(22) e, amazônicas, o cacau e o cupuaçu(23); além de ser necessária para a incorporação de genes por biobalística e para suspensão celular para a produção de metabólitos secundários(24).

A suspensão celular é utilizada atualmente para culturas em grande escala de células vegetais, a partir das quais podem ser extraídos metabólitos secundários. Uma cultura em suspensão é feita por meio da

transferência de uma quantidade de calo para um meio líquido e mantida sob condições adequadas de aeração, agitação, luz, temperatura, entre outros parâmetros <sup>(25)</sup>. A vantagem desse método é que uma vez otimizado o protocolo, é possível o fornecimento de uma fonte contínua de biomassa. Outra vantagem inclui a possibilidade de induzir a produção de metabólitos secundários de uma forma contínua utilizando elicitores tanto bióticos quanto abióticos <sup>(26)</sup>.

Nos últimos anos foram desenvolvidas diversas configurações de biorreatores, que têm se adaptado com sucesso à produção de células e tecidos *in vitro*. O uso desta tecnologia possibilita que os nutrientes sejam efetivamente entregues às células, diferentemente do que pode ocorrer em cultivo em meio de cultura semissólido <sup>(27,7)</sup>. Neste ambiente também é possível manipular as variáveis citadas anteriormente, além de aeração e forma de fornecimento do meio de cultura, podendo ocorrer de forma constante ou não.

### **Produção de metabólitos secundários *in vitro***

As plantas possuem um grande potencial biossintético, porém, o percentual deste potencial utilizado atualmente é apenas uma fração do que as plantas podem nos oferecer. A procura por novas fontes de produtos naturais e fármacos oriundos de plantas tem se expandido, principalmente sobre aqueles com acentuado potencial terapêutico já comprovado <sup>(28)</sup>.

A produção de fármacos provenientes de plantas, principalmente aqueles obtidos de espécies de arbóreas, é dificultada por diversos fatores, tais como: qualidade da matéria prima utilizada, acessibilidade, raridade de espécies de valor comercial e medicinal, principalmente aquelas localizadas em ecossistemas ameaçados de extinção <sup>(29,1)</sup>. Além disso, algumas espécies produzem quantidades muito pequenas da substância bioativa de interesse, como é o caso do taxol, utilizado no tratamento contra o câncer, onde são necessárias as cascas de três árvores de aproximadamente cem anos de idade para produzir a quantidade suficiente para o tratamento de uma pessoa <sup>(30)</sup>.

A biossíntese de metabólitos secundários é restrita a alguns tipos de células e tecidos especializados, o que dificulta os processos laboratoriais e industriais de extração e purificação dos metabólitos secundários <sup>(31)</sup>.

As principais vantagens <sup>(32)</sup> da produção de metabólitos *in vitro* são: a independência dos fatores ambientais, o aumento do controle da produção, o uso de linhagens que garantam uma qualidade consistente do produto, a simplificação dos métodos de processamento e a recuperação do produto alvo, o aproveitamento de novas rotas de síntese a partir de linhagens mutantes, a utilização de elicitores no direcionamento da produção e o aproveitamento das biotransformações que ocorrem durante o cultivo de células vegetais *in vitro*, entre outras.

Estudos comparativos de metabólitos secundários produzidos em plantas obtidas da natureza com plântulas e/ou calos cultivados *in vitro* tem sido realizados, assim como ensaios de atividades biológicas, como por exemplo, atividade antioxidante realizados na espécie *Thymus lotocephalus*, onde extratos hidroalcoólicos de calos apresentaram maior concentração de substâncias antioxidantes do que as plantas coletadas, particularmente ácido rosmarínico, apresentando assim, um maior potencial antioxidante do que extratos obtidos de plantas de campo <sup>(33)</sup>.

Estudos comparativos realizados com o gênero *Cyclopia*, mostraram que este possui atividade biológica comprovada como antioxidante, antimutagênica, anticancerígena, fitoestrogênica, antidiabética e redutora

de colesterol. Foram identificadas diversas substâncias polifenólicas nos extratos a partir de plantas de campo e calo, onde três substâncias diferentes das encontradas em plantas de campo foram identificadas no calo, sendo a primeira vez que derivados de benzofenona e dihidrochalcona foram encontradas no gênero *Cyclopia*<sup>(34)</sup>.

A vincristina e vimblastina são substâncias com comprovada ação antitumoral, porém as quantidades dessas substâncias na planta (*Catharanthus roseus*) é muito pequena<sup>(35)</sup>. Diversos grupos de pesquisa pelo mundo estão trabalhando para o melhoramento da produção dessas substâncias e para isto estão utilizando a produção de células em suspensão pela indução por meio de elicitores tanto físicos quanto químicos<sup>(36,37)</sup>, quanto a indução *in vitro* através da genética<sup>(38,39)</sup>, demonstrando que esta técnica pode ser uma grande ferramenta para auxiliar tanto na pesquisa quanto na produção de metabólitos com aplicações farmacológicas.

A artemisinina, importante antimalárico extraído de espécies do gênero *Artemisia*, é outra substância para a qual está sendo estudado o aumento da produção por suspensão celular. Seguindo o mesmo plano de ação para a vincristina e vimblastina, estão sendo testados o aumento da produção em suspensão celular utilizando elicitores<sup>(40,41)</sup>.

Foram quantificados<sup>(42)</sup> os principais metabólitos secundários de espécies do gênero *Ocimum* (alfavaca e manjerição) obtidos de culturas *in vivo*, culturas de calos *in vitro* com elicitores e *in vitro* sem elicitores. Observaram-se volumes mais elevados de fenóis, alcaloides e terpenoides nas culturas de calos *in vitro* com elicitores.

A produção de camptotecina<sup>(43)</sup> foi 3 vezes maior em suspensão celular de calos de *Ophiorrhiza mungos*, se comparado aos níveis encontrados na planta *in vivo*. A camptotecina é um alcaloide quinolínic com ação anticancerígena que está sendo utilizado em medicamentos de última geração. O aumento na produção de substâncias fenólicas e tocoferóis também foi observado em culturas de calos de uma espécie de uva (*Vitis vinifera*) com elicitores<sup>(44,45)</sup>.

No entanto, a produção de metabólitos secundários de cultura de calos *in vitro*, muitas vezes pode ser menor do que a obtida em plantas de campo ou ser até mesmo nula. Pois, a desdiferenciação pode levar à perda da capacidade de produção dos metabólitos de interesse<sup>(35)</sup>. Além de apresentar um custo elevado.

Assim, a obtenção destes metabólitos a partir de tecidos diferenciados *in vitro* pode ser igual ao obtido na planta de campo. A produção em larga escala de tecido diferenciado *in vitro* (raízes fasciculadas, microplantas, embriões somáticos, etc.), torna-se economicamente inviável por necessitar de maior área e mais gasto com insumos para a produção<sup>(46,47)</sup>.

A vantagem de se obter biomassa vegetal a partir de calos está na possibilidade de se conseguir maior quantidade de material vegetal, onde há a possibilidade de manipulação dos fatores que influenciam a produção dos metabólitos secundários através do uso de elicitores e/ou biorreatores<sup>(48,49)</sup>.

## Conclusão

A cultura de células/tecidos vegetais *in vitro* é uma ferramenta eficaz para a produção em larga escala de biomassa vegetal para a extração de metabólitos secundários de interesse, sem que ocorra a exploração

predatória de populações selvagens. Uma vez que os demais métodos de cultivo vegetal são muitas vezes limitados, onerosos e demandam mais tempo para produção dos metabólitos.

A produção e investigação de princípios ativos oriundos de plantas úteis às mais diversas vertentes do ramo da biotecnologia, tais como as indústrias cosméticas e farmacêuticas, tem incentivado a realização de pesquisas com essa técnica. Com isto, espécies vegetais comerciais e inclusive espécies pouco estudadas ou sem estudos prévios quanto a sua constituição química, quando cultivadas *in vitro*, podem fornecer alternativas para a produção de biomassa para a produção de fármacos através da biotecnologia vegetal e culturas de tecidos *in vitro*.

## Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pelos auxílios financeiros concedidos (projetos CT-Agro/CNPq, PPBio/CNPq e REPENSA/CNPq/FAPEAM), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES (projeto Pro-Amazônia/CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas - FAPEAM (projeto REPENSA/CNPq/FAPEAM).

## Referências

1. Morais TP, Luz JMQ, Silva SM, Resende RF, Silva A. Aplicações da cultura de tecidos em plantas medicinais. **Rev Bras Plan Med**. FapUNIFESP. Botucatu. 2012; 14(1):110-21. ISSN: 1516-0572. [\[CrossRef\]](#).
2. Akin-Idowu PE, Ibitoye DO, Ademoyegun OT. (2009). Tissue culture as a plant production technique for horticultural crops. **Afr J Plant Sci Biotech**. 2009 August; 8(16): 3782-88. ISSN: 1684-5315. [\[Link\]](#).
3. Davies KM, Deroles SC. Prospects for the use of plant cell cultures in food biotechnology. **Curr Opin Biotechnol**. Elsevier BV. 2014 Apr; 26:133-40. ISSN: 0958-1669. [\[CrossRef\]](#).
4. Dias MI, Sousa MJ, Alves RC, Ferreira ICFR. Exploring plant tissue culture to improve the production of phenolic compounds: A review. **Ind Crops Prod**. Elsevier BV; 2016 Apr; 82:9-22. ISSN: 0926-6690. [\[CrossRef\]](#).
5. Toso RD, Melandri F. Sustainable sourcing of natural food ingredients by plant cell cultures. **Agro Food Ind Hi Tech**. 2011; 22(2): 26-28. [\[Link\]](#).
6. Nunes EC, Pilatti FK, Rescarolli CL, Gerber T, Benson EE, Viana AM. The *in Vitro* Conservation of Plants Native to the Brazilian Amazon and Atlantic Forests. **Conserv Trop Plant Species**. Springer. New York. 2012 Jun; 27: 347-72. ISBN: 978-1-4614-3776-5. [\[CrossRef\]](#).
7. Murthy HN, Georgiev MI, Park S-Y, Dandin VS, Paek K-Y. The safety assessment of food ingredients derived from plant cell, tissue and organ cultures: A review. **Food Chem**. Elsevier BV. 2015 Jun; 176:426-32. ISSN: 0308-8146. [\[CrossRef\]](#).



8. Termignone RR. **Cultura de Tecidos Vegetais**. Editora da UFRGS, Porto Alegre, 2012. 182p. ISBN: 85-7025-810-0.
9. Aitchison, PA, Macleod AJ, Yeoman MM. **Growth patterns in tissue (callus) cultures**. In: Street HE., editor. *Plant tiss. and cell cult.* 2ª ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1977, p.267-306. ISBN: 0-520-02411-7. [\[Link\]](#).
10. Murashige T, Skoog F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. **Physiol Plant**. Wiley-Blackwell. 1962 Jul; 15(3):473-97. [\[CrossRef\]](#).
11. Namdeo AG. Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: A review. **Pharmacogn Rev**. 2007 May; 1(1): 69-79. [\[Link\]](#).
12. Taiz L, Zeiger E. **Fisiol Veg**. 5ª ed, Artmed, Porto Alegre, 2012. ISBN: 978-85-363-2795-2.
13. Jardim LS, Sampaio PTB, Costa SS, Gonçalves CQB, Brandão HLM. Efeito de diferentes reguladores de crescimento na regeneração *in vitro* de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke). **Acta Amazon**. FapUNIFESP. Manaus. 2010;40(2):275–9. ISSN: 0044-5967. [\[CrossRef\]](#).
14. Botin AA, Carvalho A. Reguladores de crescimento na produção de mudas florestais. **Rev Cien Agro**. Alta Floresta, MT, 2015; 13(1): 83-96. [\[Link\]](#).
15. Hartmann H.T, Kofranek AM, Rubatzky VE, Flocker WJ. **Plant Science: growth, development and utilization of cultivated plants**. 5ª ed. New Jersey: Regents/Prentice Hall. 2011. ISBN: 13: 9780135068502.
16. Narayanaswamy, S. Plant cell and tissue culture. Nova Delhi: **Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited**. 1994. ISBN: 13: 978-0-07-460277-5.
17. Hussain MS, Rahman MA, Fareed S, Ansari S, Ahmad I, Saeed M. Current approaches toward production of secondary plant metabolites. **J Pharm Bioall Sci**. Medknow; 2012; 4(1):10. [\[CrossRef\]](#).
18. Vijayasree N, Udayasri P, Aswani KY, Ravi BB, Phani KY, Vijay VM. Advancements in the Production of Secondary Metabolites. **J Nat Prod**. 2010; 3:112-123. [\[Link\]](#).
19. Stafford A, Warren G. **Plant cell and tissue culture**. Melksham: RedWood Press, 1991. 251p. ISSN: 1573-5044. [\[Link\]](#).
20. Pinto JEBP, Lameira AO. **Micropropagação e Metabólitos Secundários *in vitro* de Plantas Medicinais**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001;102p. [\[Link\]](#).
21. Werner ET, Milanez CRD, Mengarda LHG, Vendrame WA, Cuzzuol GRF. Meios de cultura, reguladores de crescimento e fontes de nitrogênio na regulação da calogênese do pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.). **Acta Bot Bras**. FapUNIFESP. Feira de Santana. 2010 Dec; 24(4):1046–51. ISSN: 0102-3306. [\[CrossRef\]](#).

22. Ahmad N, Fazal H, Zamir R, Khalil SA, Abbasi BH. Callogenesis and Shoot Organogenesis from Flowers of *Stevia rebaudiana* (Bert.). **Sugar Tech**. Springer. Nature. 2011 Jun; 13(2):174–7. [[CrossRef](#)].
23. Venturieri GA, Venturieri GC. Calogênese do híbrido *Theobroma grandiflorum* x *T. obovatum* (Sterculiaceae). **Acta Amazon**. FapUNIFESP; 2004 Dec;34(4):507–11. [[CrossRef](#)].
24. Pistelli L, Giovannini A, Ruffoni B, Bertoli A, Pistelli L. Hairy Root Cultures for Secondary Metabolites Production. **Adv Exp Med Biol**. Springer US. 2010; 167–84. ISBN: 978-1-4419-7347-4. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
25. Fumagali E, Gonçalves RAC, Machado MFPS, Vidoti GJ, Oliveira AJB. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Rev Bras Farmacogn**. João Pessoa. 2008 Out./Dez; 18(4). ISSN: 1981-528X. [[CrossRef](#)].
26. Cusido RM, Onrubia M, Sabater-Jara AB, Moyano E, Bonfill M, Goossens A, et al. A rational approach to improving the biotechnological production of taxanes in plant cell cultures of *Taxus spp.* **Biotechnol Adv**. Elsevier BV. 2014 Nov; 32(6):1157–67. [[CrossRef](#)].
27. Georgiev MI, Eibl R, Zhong J-J. Hosting the plant cells *in vitro*: recent trends in bioreactors. **Appl Microbiol Biotechnol**. Springer. Nature. 2013 Mar; 97(9):3787-800. [[CrossRef](#)].
28. Foglio MA, Queiroga CL, Sousa IMO, Rodrigues RAF. Plantas Medicinais como Fonte de Recursos Terapêuticos: Um Modelo Multidisciplinar. In: Construindo a História dos Produtos Naturais. **Mult Rev Interd UNICAMP**. UNICAMP. 2006; [[Link](#)].
29. Gonçalves S, Romano A. *In vitro* culture of lavenders (*Lavandula spp.*) and the production of secondary metabolites. **Biotechnol Adv**. [Internet]. Elsevier BV. 2013 Mar; 31(2):166-74. [[CrossRef](#)].
30. Nosov AM. Application of cell technologies for production of plant-derived bioactive substances of plant origin. **Appl Microbiol Biotechnol**.. Pleiades Publishing Ltd. 2012 Oct 24; 48(7):609–24. [[CrossRef](#)].
31. Serafini LA, Barros NM, Azevedo JL. **Biocologia na Agricultura e na Agroindústria**. Agropecuária. Guaíba. 2001; 463p. ISBN: 85-85347-76-7.
32. Grattapaglia D, Machado MA. Micropropagação. In: Torres AC, Caldas LS, Buso JA. Editores. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas** 1ª ed. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPQ. 1998; 1:183-260. ISBN: 85-7383-044-1.
33. Costa P, Gonçalves S, Valentão P, Andrade PB, Coelho N, Romano A. *Thymus lotocephalus* wild plants and *in vitro* cultures produce different profiles of phenolic compounds with antioxidant activity. **Food Chem**. Elsevier BV. 2012 Dec; 135(3):1253-60. [[CrossRef](#)].
34. Kokotkiewicz A, Luczkiewicz M, Sowinski P, Glod D, Gorynski K, Bucinski A. Isolation and structure elucidation of phenolic compounds from *Cyclopia subternata* Vogel (honeybush) intact plant and *in vitro* cultures. **Food Chem**. Elsevier BV. 2012 Aug; 133(4):1373-82. [[CrossRef](#)].

35. Saiman MZ, Mustafa NR, Pomahočová B, Verberne M, Verpoorte R, Choi YH, Schulte AE. Analysis of metabolites in the terpenoid pathway of *Catharanthus roseus* cell suspensions. **Plant Cell Tissue Organ Cult.** (PCTOC). Springer. Nature. 2014 Feb; 117(2):225-39. ISSN: 1573-5044. [[CrossRef](#)].
36. Fukuyama T, Ohashi-Kaneko K, Watanabe H. Estimation of Optimal Red Light Intensity for Production of the Pharmaceutical Drug Components, Vindoline and Catharanthine, Contained in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. **Environ Control Biol.** Japanese Society of Agricultural, Biological and Environmental Engineers and Scientists. 2015; 53(4):217-20. [[CrossRef](#)].
37. Fatima S, Mujib A, Tonk D. NaCl amendment improves vinblastine and vincristine synthesis in *Catharanthus roseus*: a case of stress signalling as evidenced by antioxidant enzymes activities. **Plant Cell Tissue Organ Cult.** Springer. Nature. 2015 Jan 20; 121(2):445-58. ISSN: 1573-5044. [[CrossRef](#)].
38. Prakash P, Ghosliya D, Gupta V. Identification of conserved and novel microRNAs in *Catharanthus roseus* by deep sequencing and computational prediction of their potential targets. **Gene.** Elsevier BV. 2015 Jan; 554(2):181-95. [[CrossRef](#)].
39. Van Moerkercke A, Fabris M, Pollier J, Baart GJE, Rombauts S, Hasnain G, et al. CathaCyc, a Metabolic Pathway Database Built from *Catharanthus roseus* RNA-Seq Data. **Plant Cell Physiol.** Oxford University Press (OUP). 2013 Apr 3; 54(5):673-85. [[CrossRef](#)].
40. Ali M, Abbasi BH. Light-induced fluctuations in biomass accumulation, secondary metabolites production and antioxidant activity in cell suspension cultures of *Artemisia absinthium* L. **J Photochem Photobiol.** Elsevier BV. 2014 Nov; 140:223-7. ISSN: 1011-1344. [[CrossRef](#)].
41. Tariq U, Ali M, Abbasi BH. Morphogenic and biochemical variations under different spectral lights in *callus* cultures of *Artemisia absinthium* L. **J Photochem Photobiol.** Elsevier BV. 2014 Jan; 130:264-71. ISSN: 1011-1344. [[CrossRef](#)].
42. Matthew R, Sankar PD. Comparison of major secondary metabolites quantified in elicited cell cultures, non-elicited cell cultures, callus cultures and field-grown plants of *Ocimum*. **Int J Pharm Pharm Sci.** 2014 Feb; 6(2):102-106. ISSN: 0975-1491. [[Link](#)].
43. Deepthi S, Satheeshkumar K. Enhanced camptothecin production induced by elicitors in the cell suspension cultures of *Ophiorrhiza mungos* Linn. **Plant Cell Tissue Organ Cult.** 2015 Nov; 124(3):483-93. ISSN: 1573-5044. [[CrossRef](#)].
44. Cetin E. Induction of secondary metabolite production by UV-C radiation in *Vitis vinifera* L. Öküzgözü callus cultures. **Biol Res.** 2014; 47(1):37. ISSN: 0717-6287. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
45. Cetin E, Babalik Z, Hallac-Turk F, Gokturk-Baydar N. The effects of cadmium chloride on secondary metabolite production in *Vitis vinifera* cv. cell suspension cultures. **Biol Res.** 2014; 47(1):47 [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
46. Verpoorte R, Van Der Heijden R, Ten Hoopen HJG, Memelink J. Metabolic engineering of plant secondary metabolite pathways for the production of fine chemicals. **Biotechnol Lett.** 1999; 21(6):467-479. ISSN: 1573-6776. [[CrossRef](#)][[Link](#)].

47. Saiman MZ, Mustafa NR, Choi YH, Verpoorte R, Schulte AE. Metabolic alterations and distribution of five-carbon precursors in jasmonic acid-elicited *Catharanthus roseus* cell suspension cultures. **Plant Cell Tiss Organ Cult.** 2015; 122:351–362. ISSN: 1573-5044 [[CrossRef](#)].
48. Verpoorte R, Contin A, Memelink J. Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. **Phytochem Rev.** 2002; 1:13–25. ISSN: 1572-980X. [[CrossRef](#)].
49. Trejo-Tapia G, Rodríguez-Monroy M. La agregación celular en la producción de metabolitos secundarios en cultivos vegetales *in vitro*. **Interciencia.** Caracas. 2007; 32(10): 669-674. ISSN: 0378-1844. [[Link](#)].

---

**Conflito de interesses:** O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

**Histórico do artigo:** Submissão: 30/08/2017 | Aceite: 06/08/2018 | Publicação: 29/10/2018

**Como citar este artigo:** Souza JC, Rescarolli CLS, Nunez CV. Produção de metabólitos secundários por meio da cultura de tecidos vegetais. **Revista Fitos.** Rio de Janeiro. 2018; 12(3): 269-280. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/550>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

**Licença CC BY 4.0:** Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

---