

imersão em H₂O; AIA - 40 mg/L; KNO₃ - 20 mg/L e AIA 40mg/L + KNO₃ - 20 mg/L, todos por 20 horas e comparados com sementes não tratadas. Os quatro pré-tratamentos foram superiores ao controle e iguais entre si. Quanto a capacidade morfo genética três tipos de explantes foram utilizados: epicótilo, hipocótilo e cotilédono (sem o terço final do limbo) em meio básico de MS, suplementado com BAP (0,0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 mg/L). O cotilédono seccionado mostrou como melhor explante primário na indução de brotações bem como as concentrações de 2,0 e 4,0 mg/L de BAP.

287 EFEITO DOS REGULADORES DE CRESCIMENTO NA FORMAÇÃO DE PLANTAS DE *CEPHAELIS IPECACUANHA* A. RICHARD POR CULTURA DE TECIDOS.

Marly P. Costa, Osmar A. Lameira, José E.B.P. Pinto*, Aurora Y. Sato, Cícero Dechamps, Renato Innecco, Benedita M. Rodrigues, Dulcimara G. Carvalho. - *Depto. Agríc., ESAL, CP 37, 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

Broto obtido através de segmentos internodais de *Cephaelis ipecacuanha* foram usados como explante primário. Os explantes foram cultivados em meio líquido de Gamborg et al (B5) suplementado com 3 mg/L de Benzilaminopurina e 2% de sacarose e mantidos em 28 ± 1 °C sobre 16 horas de luz e 8 horas de escuro. Os brotos em forma de roseta foram tratados com 0,1; 0,2 e 0,3 mg/L GA₃; enquanto que os brotos acima de 1,0 cm em tamanho foram transferidas para o meio de Murashige & Skoog (MS) adicionado com 3% sacarose e varias combinações de AIB; 0,3 mg/L GA₃ e 0,3% carvão ativado. Posteriormente foram transferidas para 1/2 concentração de MS sem regulador de crescimento. Para o crescimento dos brotos no meio B5 contendo 0,3 mg/L foi mais eficiente. Na fase de formação da planta após cinco semanas de cultivo no meio MS com 1,0 mg/L AIB + 0,3 mg/L GA₃ + 0,1% carvão ativado, os brotos mostraram um crescimento de 3,0 cm e uma eficiência de 100% na formação da raiz.

288 UTILIZAÇÃO DA CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS NA MICROPROPAGAÇÃO E MANUTENÇÃO DE *HELICONIA* SPP.

Dulcimara G. Carvalho, José E.B.P. Pinto*, Cícero Dechamps, Renato Innecco, Aurora Y. Sato, Benedita M. Rodrigues, Marly P. Costa - * Depto. Agríc., ESAL, CP 37, 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

O presente trabalho objetiva definir uma metodologia de propagação de *Heliconia* spp *in vitro*, visando a produção de mudas em ampla escala e livre de fitopatógenos. O estudo se justifica pelo crescente interesse do gênero *Heliconia* como flor de corte para exportação, impedimento da comercialização de rizomas pela contaminação com *Pseudomonas solanacearum* e principalmente devido ao alto custo pelo qual o rizoma vem sendo comercializado. Para obtenção de gemas livres de contaminação fúngica, rizomas de *Heliconia* foram imersos em solução de Benomyl (5 mg/L) durante 24 horas e armazenados em sacos de polietileno. Após cerca de 14 dias as gemas foram retiradas, desinfestadas (0,8% hipoclorito de sódio por 15 min) e inoculados em meio MS, acrescido de (mg/L): BAP (2,0), AIA (0,5) e sulfato de adenina (80). Os explantes desenvolvidos foram então repicados para meio de multiplicação com 2,5 mg/L de BAP. A taxa de multiplicação média de 4 subculturas, espaçadas de um mês, foi de 3 brotações/explante. Isolamentos feitos a partir de materiais oriundos do campo apresentaram alta contaminação com a bactéria *Bacillus subtilis* além de oxidação intensa e morte do tecido do explante. Nova metodologia esta sendo utilizada para inoculação das gemas em meio líquido.

289 MICROPROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE *Artemisia annua* VISANDO OBTENÇÃO DE CLONES DE PLANTAS COM FLORESCIMENTO TARDIO.

Marcos Nopper Alves¹, Claudia Isabel P.H. Chang², Ólio Montanari Jr.¹ & Pedro Melillo de Magalhães¹ - 1 Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas da UNICAMP, 2 Depto. Fisiologia Vegetal, IB, UNICAMP, Agrotecnologia, CPQBA, UNICAMP, CP 6171, Campinas, SP 13081-970, Brasil.

A *Artemisia annua* vêm sendo alvo de estudos no Centro Pluridisciplinar de Estudos Químicos, Biológicos e Agrícolas da UNICAMP. A área de agrotecnologia vem desenvolvendo metodologia adequada no sentido de selecionar plantas com altos teores de seu princípio ativo (artemisinina) bem como donar plantas que apresentem características agrônomicas de interesse como por exemplo grande quantidade de biomassa. Uma das dificuldades em se obter plantas desta espécie com grande crescimento vegetativo e biomassa elevada, é a alta taxa de plantas com florescimento tardio, foram selecionados em campo experimental 2 lotes de plantas com florescimento aos 2 e 4 meses. Estes foram isolados no campo e brotos foram coletados para clonagem através de micropropagação vegetativa. Os brotos após esterilizados, foram inoculados em meio de cultura MS acrescido de 6-benzilaminopurina (1,0 mg/l) e ácido naftaleno acético (0,1 mg/l). As plantas foram enraizadas em meio de cultura na ausência de hormônios

e aclimatadas em fitotron à temperatura de 25 °C e umidade relativa 90-100% antes de serem transferidas para viveiro, onde foram observadas até o seu florescimento. Os resultados mostraram que as plantas com florescimento aos 2 meses conservaram em até 85% esta característica após a donagem, e as plantas com florescimento aos 4 meses mantiveram a característica em até 80%. Podemos concluir que é possível através de micropropagação vegetativa donar plantas de *A. annua* selecionando indivíduos em função da época de florescimento desejada. Tal processo permite a coleta de material vegetal para extração de seus princípios ativos em períodos pré estipulados antes do florescimento.

290 IN VITRO REGENERATION OF *ARACHIS VILLOSULICARPA* HOENE FROM SEED EXPLANTS AND CELL SUSPENSION CULTURES

C. Lacorte¹, E. Mansur² and A.R. Cordeiro¹. 1 - Dept. Genética, Inst. Biologia, UFRJ; 2 - Dept. Biologia Celular e Genética, UERJ.

Arachis villosulicarpa is a relative of the commonly cultivated peanut, found in Western Mato Grosso and Southeastern Rondonia States, Brazil. It is cultivated by the Nambicuará Indians and has never been collected in wild. In this report we describe *in vitro* regeneration of *A. villosulicarpa* from cotyledon, immature leaves and cell, suspension cultures. High regeneration rates were obtained from leaf and cotyledon explants on AI (MS salts supplemented with 1.0 mg/l 1-naphthaleneacetic acid (NAA) and 1.0 mg/l 6-benzilaminopurine (BAP) and solidified with agar 0.7%). Cell suspension cultures were established from friable calli obtained from cotyledon explants cultivated on MS medium containing 0.2 mg/l Picloran (PIC) and 1.0 mg/l BAP. Suspension cultures were maintained in liquid MS medium with 0.4 mg/l PIC. Small calli grown in liquid culture regenerated plants after being transferred to AI medium. Plantlets were rooted on MS medium and then transferred to soil. The regeneration system described in this report may contribute for germoplasm preservation of *Arachis villosulicarpa*, considering the increasing destruction of the natural vegetation of the indigenous cultures in the area of cultivation.

291 IN VITRO REGENERATION OF PEANUT (*ARACHIS HYPOGAEA* L.): EFFECT OF TEMPERATURE; MEDIUM RIGIDITY AND pH

V.G. de Freitas¹, M.C. Pestana², L.A. Carneiro², C. Lacorte¹, D. E. Oliveira, A.R. Cordeiro¹ and E. Mansur². 1 - Depto. Genética, I. Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, CP 69011; 2 - Dept. Biologia Celular e Genética, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

Reports concerning *in vitro* organogenesis from peanut cotyledon and leaf tissues usually explore effects of variations on salt and growth regulators compositions. However, efficient plant regeneration has not been obtained so far. In this study, the effects of temperature (35-37 and 24-26 °C), different agar concentrations (0.6, 0.7 and 0.8%) and pH values (4.8, 5.3 and 5.8) were tested, in order to improve plant regeneration frequencies. Leaf and cotyledon explants were cultivated respectively on Medium CI (MS medium supplemented with 25.0 mg/l BAP) and FI (MS medium supplemented with 3.0 mg/l NAA and 1.0 mg/l BAP). For both explants, plant regeneration efficiency at 35-37°C was significantly higher than at 24-26 °C, with the production of up to 150 shoots per cotyledon explant during a period of 4 months observation. At higher temperatures, media solidified with 0.6% agar and pH of 5.3 produced higher regeneration rates. These results confirm the importance of optimizing factors other than growth regulators composition of the culture medium, to obtain high yields of regenerants from *in vitro* plant cultures.

292 ANATOMICAL ANALYSIS OF IN VITRO MULTIPLE BUD FORMATION FROM PEANUT (*Arachis hypogaea* L.) COTYLEDONS.

V. G. de Freitas¹, L. J. Neves², A. R. Cordeiro¹ and E. Mansur². 1. Dept. Genética, I. Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, CP 69011; 2- Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro; 3- Depto. Biologia Celular e Genética, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brazil.

The establishment of methodologies for plant regeneration is essential for the application of *in vitro* genetic manipulation techniques. Here, we describe an anatomical analysis of multiple bud formation from de-embryonated cotyledons, in order to determine which cells are involved in the regenerative process. Cotyledons from 1 to 30 days of culture on bud induction medium (MS medium supplemented with 25.0 mg/l BAP) were sectioned and analysed under an optical microscope. It was possible to follow the modifications of the cotyledon vascular tissue, which emit bundles to the periferic parenquima of the organ. The multiplication and dedifferentiation of the parenquimatic cells, associated with the bundles, result in the formation of new buds. These results show that cotyledon vascular cells are directly involved in the regeneration