

Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da idade do cotilédone seccionado (sem o terço final do limbo) na regeneração de brotos. Os cotilédones foram obtidos de seedlings germinados *in vitro*. A partir do 13º dia da inoculação das sementes, os cotilédones começaram a ser retirados, seccionados e inoculados em meio de cultura Murashige & Skoog (MS) suplementado com benzilaminopurina (BAP 4,0 mg/L) e ácido indolacético (AIA 1,0 mg/L). Foram retirados 15 cotilédones por dia até o 25º dia da inoculação das sementes. O experimento foi conduzido em sala de crescimento sob fotoperíodo 16/8 horas (luz/escuro), temperatura  $26 \pm 1^\circ\text{C}$  e delineamento experimental inteiramente casualizado com 13 tratamentos (idades), 3 repetições e 5 tubos por repetição. As avaliações foram feitas 20 dias após a inoculação dos cotilédones de cada tratamento separadamente observando a regeneração de brotos. Os resultados mostraram que para a micropropagação de pimentão, utilizando-se o cotilédone como explante primário, a idade teve grande influência na organogênese. Quanto mais novo o explante melhor resposta e mostrou-se uma regeneração por via direta.

#### 244 MICROPROPAGAÇÃO DE PIMENTÃO (*CAPSICUM ANNUUM* L.) USANDO A COMBINAÇÃO DE CITOCININA E AUXINA.

Renato Innecco, José E.B.P.Pinto\*, Cícero Dechamps, Jacy Nascimento, Dulcimar G. Carvalho, Clóvis M.Souza - \*Depto. Agric., ESAL, CP 37, 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

Como explante primário foi utilizado cotilédones seccionados (sem o terço final do limbo) retirados de seedlings produzidos *in vitro*. Os cotilédones seccionados foram inoculados em meio de cultura MS, solidificado com 6,5 g/L de agar e suplementado com as combinações de Benzilamino purina (BAP) - 2,0; 4,0 e 8,0 mg/L e ácido indol acético (AIA) - 0,5; 1,0 e 2,0 mg/L. O experimento foi montado segundo o modelo inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x3 com 4 repetições e 5 explantes por repetição. O experimento foi conduzido em sala de crescimento sob fotoperíodo de 16/8 horas (luz/escuro) e temperatura de  $26 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Aos 45 dias foi feita a avaliação observando-se: percentagem de calos, tamanho de calos, percentagem de brotações e enraizamento. A melhor combinação para indução de brotações nas duas extremidades do cotilédone foi a de BAP 4,0 mg/L com AIA 1,0 mg/L.

#### 245 EFEITO COMPARATIVO DO "TZD E BAP" NA REGENERAÇÃO DE BROTAÇÕES E CALOS EM PIMENTÃO (*CAPSICUM ANNUUM* L.).

Renato Innecco, José E.B.P.Pinto\*, Cícero Dechamps, Aurora Y. Sato, Jacy Nascimento. - \*Depto. Agric., ESAL, CP 37, 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

Na intenção de avaliar o efeito de um novo regulador de crescimento *in vitro* o TZD (Tidiazuron) comparando-o com o BAP foram feitos dois experimentos. O primeiro testou-se a imersão de cotilédones seccionados (sem o terço final do limbo) em soluções de BAP (2,2; 22,0; 220,0 mg/L) ou TZD (2,2; 22,0; 220,0 mg/L) por 60 segundos e depois inoculados em meio MS solidificado com agar. Num segundo experimento cotilédones seccionados foram inoculados em meio MS solidificado com agar e suplementado com BAP (2,0; 4,0; 8,0; 16,0; 32,0 mg/L) ou TZD (0,05; 0,15; 0,45; 1,35; 4,05 mg/L). Quanto a avaliação do primeiro experimento o TZD mostrou mais ativo que o BAP dando maiores respostas morfológicas em todas as concentrações. No segundo experimento a concentração de TZD 0,15 mg/L e de BAP 4,0 mg/L não diferiram estatisticamente, mostrando maior princípio ativo do TZD em relação ao BAP, neste caso mais de 25 vezes.

#### 246 ESTUDO DE DUAS SOLUÇÕES ENZIMÁTICAS NA EFICIÊNCIA DE ISOLAMENTO DE PRÓTOPLASTOS DE CANA-DE-AÇÚCAR VAR. SP 79-10111

Maria Cristina Falco, Augusto Tullmann Neto & Beatriz M. Januzzi Mendes. Seção de Radiogenética, CENA/USP, CP 96, Piracicaba, SP, 13400-970, Brasil.

Para garantir boa eficiência de plaqueamento é necessário que se tenha densidade elevada de protoplastos isolados após o tratamento enzimático. Visando determinar qual a eficiência de duas soluções enzimáticas, descritas na literatura, para isolamento de protoplastos de cana-de-açúcar var. SP 79-1011, suspensões celulares mantidas por 1 ano em subcultivos semanais em meio MS suplementado com 3 mg/l 2,4 D, 500 mg/l de caseína hidrolisada e 10% de água de coco, foram tratadas com duas soluções de enzimas. Foram feitas contagens do número de protoplastos intactos isolados, a intervalos de 30 minutos, em microscópio invertido, seguindo metodologia adaptada no decorrer do trabalho. O período de contagens se prolongou por cerca de 5 horas, quando já apresentava redução nítida de número de protoplastos intactos em relação ao pico. A concentração inicial da suspensão celular já acrescida da solução de enzimas era de  $3,43 \times 10^5$  célula/ml. A solução 1 (2% celulase RS, 0,2% Pectinase, 0,1% Driselase, 0,2%

Macerozyme, 0,2 M Manitol, 0,2 M Sorbitol, 3 mM MES, 0,7 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) teve seu pico de isolamento com 2,5 horas de digestão (48,8%), enquanto que na solução 2 (2% Celulase R10, 0,5% Driselase, 0,1% Pectolase Y 23; 0,2 M Manitol; 0,2 M Sorbitol; 3 mM MES; 0,7 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) o pico de protoplastos isolados deu-se com 3,5 horas (38,8%). Embora a eficiência de digestão dependa amplamente do tipo de suspensão celular utilizada, com base nesse experimento pode-se optar pela solução 1 para dar seqüência aos estudos, uma vez que a % de isolamento foi satisfatória. A diferença básica entre as duas soluções enzimáticas que parece influir decisivamente na eficiência do método é o tipo de celulase utilizada, uma vez que a Onozuka RS tem maior poder de digestão.

1- Financiado pela FAPESP

#### 247 AVALIAÇÃO CRESCIMENTO DE CULTURA DE CÉLULA EM SUSPENSÃO DE CANA-DE-AÇÚCAR VAR. 79- 1011.

Maria Cristina Falco<sup>2</sup>, Beatriz M. Januzzi Mendes<sup>2</sup> & Augusto Tullmann Neto<sup>2</sup> - 2 Seção de Radiogenética, CENA/USP, CP 96, Piracicaba, SP, 13400-970, Brasil.

Células em suspensão de cana-de-açúcar, variedade 79-1011, obtidas de culturas de calos e mantidas em meio de cultura MS suplementado com 100 ml/l de água de coco, 3 mg/l de 2,4 D e 500 mg/l de caseína hidrolisada (pH ajustado para 5,7) foram utilizadas neste experimento, que tem por objetivo a obtenção da curva de crescimento da cultura. Para quantificação desse crescimento, foram avaliados os seguintes parâmetros: número de células, peso fresco, peso seco de células e volume do conjunto de células. Esta avaliação foi feita em intervalos de 48 horas em um total de 46 dias. As curvas de pesos e de volume apresentaram pico por volta de 30 dia, mas tais parâmetros não fornecem informações sobre a qualidade das células. Já a curva com base no número de células permite avaliar o potencial real de multiplicação, uma vez que apenas as células embriogênicas são contadas, descartando-se as mortas, alongadas, ou vacuoladas. O pico para este parâmetro ocorreu entre 12 e 14 dia, embora a partir do 10º dia já se observe células vacuoladas. Supõe-se assim, que a troca de meio de cultura quando realizada nesse pico, promovera uma multiplicação mais intensa na próxima fase, dada às ótimas condições das células inoculadas. Se a cultura permanecer por mais de 15 dias sem troca de meio, haverá um crescente declínio das células e a recuperação de uma cultura com alta percentagem de células embriogênicas tornar-se-a cada vez mais difícil.

1- Financiado pela FAPESP.

#### 248 PROPAGAÇÃO CLONAL IN VITRO DE *Cephaelis ipecacuanha* A. RICHARD ATRAVÉS DE SEGMENTOS INTERNODAIS.

Osmar Alves Lameira<sup>1</sup>, Marly Pedrosa da Costa<sup>2</sup>, José Eduardo Brasil Pereira Pinto<sup>2</sup> e Edson José Artiaga de Santiago<sup>3</sup> - 1 EMBRAPA-CPATU, CP 48, Belém, PA, 66095-100, Brasil. 2 Depto. Agric., ESAL, CP 37, Lavras, MG, 37200-000, Brasil.

Segmentos internodais de plântulas de *ipecacuanha* obtidas *in vitro* em experimento preliminar foram usados como fonte de explantes. Os segmentos com aproximadamente 5 mm de comprimento foram excisados e inoculados no meio básico líquido de Gamborg et al., 1968, adicionado com 0,22, 2,22, 6,66 e 13,22  $\mu\text{M}$  de benzilaminopurina, BAP e 2% de sacarose. Os explantes foram cultivados a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  por um fotoperíodo de 16 h de luz/dia. Após 25 dias de incubação foram obtidos até nove brotos por segmento no meio de cultura contendo 6,66  $\mu\text{M}$  BAP. Posteriormente, os brotos cresceram até 3 cm e apresentaram uma eficiência de 100% para formação de raiz, após 35 dias de cultivo no meio básico de cultura de Murashige & Skoog contendo 4,92  $\mu\text{M}$  de ácido indolebutírico, 0,87  $\mu\text{M}$  de ácido giberélico e 0,1% de carvão ativado. O crescimento radicular foi acelerado após a transferência para o meio de cultura contendo a metade da concentração normal de sais do meio de Murashige & Skoog não adicionado de regulador de crescimento. As plântulas regeneradas foram estabelecidas com sucesso no solo.

#### 249 INFLUÊNCIA DO ÁCIDO INDOLBUTÍRICO, ÁCIDO INDOLACÉTICO E PERÍODO ESCURO NO ENRAIZAMENTO "IN VITRO" DE MACIEIRA (*Malus domestica*, Borkh).

<sup>1</sup>César L. Girardi, <sup>1</sup>Laudeje L. Sartoretto, <sup>1</sup>Maria J. Camacho, <sup>2</sup>Gerson Renan de Lucas Fortes, <sup>3</sup>Benedito Gomes Santos Filho. 1- Estudante de Pós-Graduação da FAEM/UFPEL, Pelotas, RS, Brasil. 2- Pesquisador da EMBRAPA/CNPFT, CP 403, 96010-970, Pelotas, RS. 3- Prof. do Dep. de Botânica IB/FAEM, UFPEL, Pelotas, RS.

Com o objetivo de verificar o enraizamento em explantes de macieira, utilizaram-se duas concentrações de ácido indolacético (AIA) 0,5 e 1,0 mg/l, e duas de ácido indolbutírico (AIB), 1,0 e 2,0 mg/L, em combinação com três períodos de escuro (24, 48 e 72 horas). As variáveis analisadas foram: número e comprimento de raízes, número de raízes secundárias e formação de calo na base do explante. O experimento foi conduzido