

vitro, já que esta espécie vegetal apresenta-se sob risco de extinção.
1. Apoio financeiro da UFC/FINEP.

315

MICROPROPAGATION OF ANNATTO (*Bixa orellana* L.)

Wagner Ferreira¹ & Bruno Miquer² - 1 CNPq Fellowship Holder, M.S. in Plant Science (U.S.A.). 2 Professor/Researcher of UFPB, M.S. in Biochemistry (France). LTF - UFPB, Campus I 58051-970, João Pessoa, PB, Brasil.

Plant tissue culture has an important role to play in the manipulation of plants for improved agronomic performance. Based on that fact, the objective of our work was to initiate tissue culture studies on annatto in order to try to enhance its qualities, especially what relates to the percentage of bixin present in the seeds. Initially, annatto seeds were germinated *in vitro*. The medium used contained KNOP salts, 8 g/l of agar and 20 g/l of sucrose. Before the *in vitro* sowing, the seeds underwent a heat treatment and were soaked in commercial bleach (5% Sodium hypochlorite) for 20 minutes. They were rinsed 3 to 4 times in autoclaved water. The germination rate was 70%. Eight weeks after sowing, the root system and all but one or two leaves near the apical meristem were removed from the seedlings, and 1 centimeter of the stem was left intact. These explants were transferred to a semi-solid primary culture medium, containing Murashige & Skoog salts. BAP (8.9 µM) and IBA (9.8 µM) were added to the medium to induce callus formation. In about 12 weeks 70% of the explants had formed callus, out of which 27.8% were green and 72.2% were light brown or whitish. The green calluses were transferred onto a new medium containing Murashige & Skoog salts plus 8.9 µM of BAP to produce shoots and leaves. At the moment we are trying to increase the production of green calluses and to root the shoots obtained from them.

316

ESTABELECIMENTO E INDUÇÃO DE RIZOGÊNESE *IN VITRO* DE SARANDI (*Sebastiania schottiana*, Muel. Arg.)

Cícero Deschamps, José E.B.P. Pinto, Renato Innecco, Aurora Y. Sato & Benedita M. Rodrigues - Depto. Agric., ESAL, CP 37, Lavras, MG, 37200-000, Brasil.

As brotações utilizadas na cultura *in vitro* desta espécie, foram provenientes de mudas mantidas em casa de vegetação protegidas com sombreiro 50% e cobertas individualmente com sacos plásticos transparentes após pulverizações do princípio ativo benomyl (0,1%). O tipo de explante para o estabelecimento *in vitro* foi avaliado com relação à posição e presença ou ausência de folhas. No fator posição, seguimentos de 2 cm abaixo do ápice das brotações foram denominadas apicais e 2 cm abaixo, basais. Observou-se após 30 dias de cultivo que explantes apicais apresentaram necrose, o que não ocorreu em explantes basais, cujo estabelecimento foi superior. Verificou-se ainda que as folhas não influenciaram no estabelecimento de explantes basais, já em explantes apicais devem ser retiradas. A indução da rizogênese por sua vez foi testada em meio de cultura MS e WPM, líquido e sólido, suplementados com 0; 0,5; 2,5; 5,0 e 10 µM de ácido indolbutírico (AIB). O maior número de explantes enraizados bem como o maior número de raízes foi obtido na concentração de 2,5 µM de AIB em meio WPM, independente da presença de agar. O estabelecimento *in vitro* foi maior em meio WPM sem AIB. Se o meio líquido for empregado, MS e WPM podem ser usados, entretanto, em meio sólido (0,6% de agar) o meio WPM apresentou melhores resultados.

317

ESTABELECIMENTO E MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE *Solidago microglossa* A PARTIR DE GEMAS APICAIS E BASAIS

José Luiz de Faria, José E.B.P. Pinto & Cícero Deschamps - Depto. Agric., ESAL, CP 37, Lavras, MG, 37200-000, Brasil.

A espécie *Solidago microglossa* pertence à família Compositae e representa um grupo de plantas perenes, herbáceas e com 80-120 cm de altura. Possui propriedades terapêuticas em doenças estomacais, substituindo a amêrcica verdadeira, além de ser uma excelente planta apicula. O explante primário utilizado foi proveniente de mudas mantidas em casa de vegetação. A posição (apical e basal) dos explantes foi testada com relação à interação dos reguladores de crescimento benzil-aminopurina (BAP) e ácido naftalenólico acético (ANA) nas concentrações de 0; 4,44; 8,88 µM e 0; 0,5; 2,5 µM, respectivamente. O fator posição também foi avaliado com BAP (0; 2,22; 4,44 e 6,66 µM) em meio MS com diferentes concentrações de sais (100%, 50% e 25%). A utilização de reguladores de crescimento mesmo em baixa concentração mostraram fitotoxicidade ao tecido. Portanto, melhores resultados no estabelecimento e multiplicação *in vitro* foram obtidos quando utilizaram-se metade da concentração de sais em meio MS isento de reguladores de crescimento.

318

USE OF A pH-INDICATOR FOR AN EARLY DIAGNOSIS OF GLASS WASHING EFFICIENCY AND MICROBIAL CONTAMINATION IN PLANT TISSUE CULTURE.

Kazumitsu Matsumoto, Reiko U. Matsumoto, Milena L. Barbosa, Cristina Hirao and João B. Teixeira (Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia, EMBRAPA, CP 02372, 70849-970 Brasília-DF)

Inadequately washed glass bottles and microbial contamination make principal factors of failure in large scale plant tissue culture, particularly in commercial micropropagation. The problem of poorly washed bottles is mainly based on detergent residue, and microbial contamination problem on bacteria. Both, detergent residue and bacterial contamination, change the pH value of the culture medium. Then, they may be indirectly detected by color change when the medium contains a pH-indicator such as bromocresol purple (BCP). Aiming to do an early diagnosis of glass washing efficiency and microbial contamination, the effects of BCP on banana and cassava tissue culture were studied.

Banana shoot tips, 'Magro' (Silk, Musa sp. AAB), were cultured on a rooting medium composed of MS salts and vitamins, 0,25 mg/l α-naphthaleneacetic acid (NAA), 3% sucrose, 0,7% agar, supplemented with 0, 2, 4 or 8 mg/l BCP. After one month of culture, root number, root length and shoot length were evaluated. The BCP (8 mg/l) effects were also evaluated on multiple shoot culture and cell suspension culture of "Magro" and/or "Nanicco" (AAA, Cavendish subgroup) banana, and cassava shoot tip culture. In all cases, BCP did not cause any positive or negative effects on the cultures.

In glass bottles washed inefficiently, the BCP-medium color is different from others, after autoclaving. In many cases, it turns into purple (pH 6,0), making itself possible for identification and elimination of the poorly washed bottles, before usage. When bacteria appear, the medium color becomes yellow (pH 5,2), making it possible, too.

319

OBTENÇÃO DE CALOS FRIÁVEIS EM MILHO.

Carvalho, C.H.S., Santos, M.X., Magnavaca, R., Gama, E.E.G. Bordallo, P.N. EMBRAPA/CNPMS, CP 151, 35701-970, Sete Lagoas, MG.

Os calos de milho cultivados *in vitro* têm sido classificados em dois tipos :Tipo I (calo duro e compacto) e TIPO II (calo macio, friável e de rápido crescimento). Os calos do Tipo II permitem o estabelecimento de culturas de células em suspensão e de protoplastos. De modo geral, os calos do Tipo I são facilmente obtidos a partir de embriões imaturos. Os calos friáveis do Tipo II são bastante raros e só foram obtidos para um pequeno número de genótipos. Visando identificar genótipos de milho capazes de formar calos do Tipo II, 106 genótipos do programa de melhoramento da EMBRAPA/CNPMS foram testados. O trabalho foi iniciado em julho/90, usando-se embriões imaturos (1,5 a 2,0 mm) como explantes e meio contendo sais N6, sacarose (30 g/l), casaminoácidos (100 mg/l), glicina(30mM), tiamina(15 µM), ácido nicotínico (7,5µM), piridoxina(7,5µM), miosinótil (550 µM), dicamba (30 µM) e gelrite (2,3 g/l). Durante os primeiros meses de cultivo todos os genótipos produziram apenas calos duros do Tipo I. Calos friáveis só foram identificados 11 meses após o plaqueamento dos embriões. Foram selecionados 8 genótipos com calos do tipo II. Em 3 genótipos, os calos eram macios, mucilaginosos e com grande número de embriões somáticos na superfície, nos 5 restantes, os calos eram bastante friáveis, não mucilaginosos e com um menor número de embriões somáticos. Durante a manutenção dos calos, a adição de prolina a 6 mM aumentou a formação de calos friáveis. Os 20 genótipos mais adaptados ao cultivo *"In vitro"* foram novamente plantados e plaqueados no mesmo meio anterior, mas com a adição de 6 mM de prolina. Neste caso, foi possível o isolamento de calos friáveis em 7 genótipos, apenas 3 a 8 semanas após o plaqueamento. Os calos friáveis apresentaram alta capacidade de regeneração de plantas durante os primeiros 12 meses, sendo possível a regeneração de plantas a partir de embriões isolados. No entanto, a capacidade de regeneração de plantas foi bastante reduzida em calos com 2 anos de idade.

320

INDUÇÃO FLORAL DE *Gypsophila elegans* var. rose (CARYOPHILACEAE), CULTIVADO *IN VITRO*

Roberto Jun Tanake¹, Marcião de Almeida², Antônio A. Lucchesi² & Keigo Minami³ - 1 Pós-Graduando do CPG em Fisiologia e Bioquímica de Plantas, ESALQ/USP. 2 Departamento de Botânica, ESALQ/USP. 3 Departamento de Horticultura, ESALQ/USP, CP 09, Piracicaba, SP, 13418-900, Brasil.

A *Gypsophila elegans*, é uma espécie vegetal muito utilizada em floricultura, principalmente em arranjos de flores ressaltando de modo delicado, os principais tipos de buques. O presente trabalho, foi desenvolvido na Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"- USP - Campus de Piracicaba nos Departamentos de Botânica e Horticultura, e teve como objetivo avaliar o efeito do fotoperíodo, na indução floral desta espécie *in vitro*. Após a esterilização, os explantes foram inoculados em meio de cultura MURASHIGE & SKOOG (MS modificado) e mantidos a uma temperatura de $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ em câmara de germinação BOD com 8, 12, 16, 20 e 24 horas de luz, com intensidade de 1000 lux. Após 25 dias de cultura, surgiram as primeiras flores que foram analisadas quanto a qualidade e quantidade. Os explantes