a 50ìm; fez-se a desinfestação com a imersão no álcool etílico a 70% (1 min.), NaClO 1% com algumas gotas de Tween 80 (15 min.) sob agitação; e lavagem por 5 vezes em água destilada e autoclavada. Os embriões foram excisados e inoculados em tubos de ensaio, onde foram cultivado durante 4 semanas e avaliados quanto ao número de plântulas formadas e número de raízes por planta. Os resultados apresentaram como meio mais adequados para a conversão de embriões zigóticos in vitro os seguintes tratamentos T4(MS+CA)(88,75%), seguidos do T5(MS+CA+NaH<sub>2</sub>P0<sub>4</sub>)(72,20%),  $T3(MS+NaH_{2}P0_{4})(65,45\%),$ T6(Vermiculita)(68,10%). T2(MS)(55,25%) e T1(Agar)(0,6%-0%). Portanto, é possível a conversão in vitro de embriões zigóticos em plântulas completas e normais. O meio de cultura com adição de carvão ativado é o mais adequado para a formação de plântula de cupuaçuzeiro in vitro a partir da cultura de embriões.

## 1516

Efeito de concentrações de BAP na proliferação de gemas in vitro de pimenteira-do-reino

Hérica Santos de Oliveira<sup>1</sup>; Oriel Filgueira de Lemos<sup>1</sup>; Ilmarina Campos de Menezes<sup>1</sup>; Joseane de Nazaré Oliveira Cardoso<sup>1</sup>; Alfredo da Luz da Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Amazônia Oriental. CEP 66095-100, Belém, PA – Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal Rural da Amazônia. CEP: 66.077-530, Belém, PA-Brasil. <sup>1</sup>Email: hericaeng@yahoo.com.br

A pimenta-do-reino é um dos principais produto agrícola de exportação do estado do Pará com cerca de 30 mil hectares de área plantada e mais de 48 milhões de pés, os quais precisam ser renovados em média a cada seis anos devido a ocorrência da doença fusariose causada pelo fungo Fusarium solani f. sp. piperis. O objetivo deste trabalho foi identificar concentração mais adequada de BAP para a fase de proliferação de gemas no processo de micropropagação da cultivar Cingapura. Gemas axilares e apicais originadas de plântulas desenvolvidas em substrato vermiculita com adição de sais de MS que passaram pela fase de estabelecimento foram inoculadas em meio MS com diferentes concentrações de BAP [0,5 (T1), 1,0 (T2), 1,5 (T3) mg L-1] e AIA a 0,2 %, em frascos de 300 mL com 40 mL do meio sob câmara de fluxo laminar. As condições de cultivo foram de uma fase escura por 48 h e posterior fase clara (fotoperíodo de 16/8 h proporcionada por três lâmpadas fluorescentes brancas e temperatura média de 25±3 °C). Os 3 tratamentos continham 8 repetições dispostos em delineamento inteiramente casualizado mantidos por 6 a 8 semanas em cultivo. A avaliação foi quanto ao número de novas gemas formadas por explante, cujos resultados baseados na análise dos dados através do teste que demonstraram que o melhor tratamento de proliferação de gemas ocorreu no T2 seguido do T3 e T1, médias de gemas/ explante, respectivamente. Portanto, a concentração 1,0 mg.L-1 de BAP é a mais adequada para a formação de gemas durante a fase de multiplicação no processo de micropropagação de plantas da cultivar Cingapura.

## 1517

Source of explants on *in vitro* establishment of *Eucalyptus* benthamii

Fabricio A. Hansel¹; Leonardo Ferreira Dutra¹; Lucélia Taverna²\*; Ivar Wendling¹; Marcela Guiotoku¹

<sup>1</sup>Embrapa Florestas, CP 319, CEP 83.411-000, Colombo, PR, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal do Paraná, CP 19081, CEP 81.531-990, Curitiba, PR, Brasil

The proliferation of explants from adult plants is a factor of an efficient establishment rate. This study aimed to asses the source of adult *E. benthamii* explants with respect to contamination, oxidation and survival after 30 days of establishment culture. Three different sources of explants were studied: (i) lateral buds of field grown adult plants (FS), (ii) lateral buds of clone yard greenhouse grown rejuvenated adult plants (YS) and (iii) lateral buds of greenhouse grown branches (60 cm) from field grown adult plants (BS). Neither stock plants nor branches suffered any chemical treatment. The explants were about 1.5 cm in length, and were cultured on MS medium. The nodal segments were exposed to follow aseptic procedure: washing in running tap water (10 min), immersion in commercial liquid detergent (5%, 10 min), ethanol (70%, 1 min),

fungicide (0.7 g L<sup>-1</sup>, 10 min, thiophanate-methyl) and commercial bleaching (1% NaClO, 10 min), then washing three times in sterile distilled water. The best result for uncontaminated explant was BS (60%) followed by YS (45%) and FS (3%). Oxidation was very low to all sources (maximum 6%). In order to test some contamination improvement, an additional factorial experiment, with different concentration of fungicide (0.014, 0.7 and 3.5 g L<sup>-1</sup>) and commercial bleaching (0.5, 1 and 5% NaClO), was made in FS explants, but the survival was not as good as showed by BS, just 30% of explants were established in the better treatment. The present work showed that the best source of explants, when any chemical treatment is made in the stock plants, is the branches grown in the greenhouse.

## 1518

Assepsia para estabelecimento in vitro de erva-mate (llex paraquariensis)

Danielle C. dos Santos¹; Ivar Wendling¹; Leonardo F. Dutra¹; Luiz C. Fracaro¹

<sup>1</sup>Embrapa Florestas, CP 319, CEP 83.411-000, Colombo, PR, Brasil. E-mail: leo@cnpf.embrapa.br

O rejuvenescimento e resgate de material adulto selecionado de erva-mate via micropropagação, é dependente de um eficiente procedimento de desinfestação e controle da oxidação. Objetivouse testar tratamentos se assepsia para o estabelecimento in vitro de erva-mate. Segmentos nodais de 2,5 cm de comprimento foram coletados de duas matrizes adultas e submetidos à pré-assepsia, sendo inicialmente lavados em água corrente por 30', detergente 30% por 10' e enxaguados em água destilada autoclavada. Posteriormente, foram tratados com de benlate a 2,0 g L<sup>-1</sup> por 15' e submetidos aos seguintes procedimentos de assepsia: i) imersão em hipoclorito de sódio (NaClO) 1,5% por 30'; 5,0% por 10'; e 10% por 10'; ii) imersão em hipoclorito de cálcio (CaClO<sub>2</sub>) 1,5% por 30'; 5,0% por 10'; e 10% por 10'. Após os tratamentos de assepsia, os explantes foram lavados três vezes com água destilada e autoclavada e inoculados em 1/4 MS acrescido de 7,5 g L-1 de sacarose e 0,1 mg L-1 de BAP. O meio de cultura foi solidificado com 6 g L-1 de ágar e teve pH ajustado em 5,8. Trinta dias após a inoculação verificou-se a diferença de resposta tanto entre os dois produtos de assepsia quanto das duas matrizes. O CaClO, foi mais eficiente do que NaCIO, o primeiro proporcionando taxas de estabelecimento de 28,66 e 46,43% e o segundo de 9,68 e 7,89% para as matrizes 1 e 2, respectivamente.

## 1519

Micropropagação de estátice

Ana Kelly Firmino da Silva \*1; Ana Cristina P. P. de Carvalho¹; Ana Vládia da Costa Brito\*¹; João Paulo S. Morais¹

<sup>1</sup>Embrapa Agroindústria Tropical, CP 3761, 60.511-110, Fortaleza, CE, Brasil. \*Bolsista do PET/ Aluna da UFC/Agronomia. E-mail: kelly.firmino@gmail.com

Limonium spp. pertencente à família Plumbaginaceae, caracterizado pelo alto valor ornamental como flor de corte ou seca. Misty Blue é um híbrido obtido a partir do cruzamento entre Limonium caspia e outras duas espécies, resultando numa planta vigorosa, com flores pequenas azuis. Objetivou-se avaliar a taxa de multiplicação de estátice 'Misty Blue' em meios de cultura contendo diferentes concentrações de BAP. Foram utilizados como explantes gemas axilares obtidas de mudas micropropagadas. Os explantes foram colocados em frascos contendo 30 mL de meio MS, com 30 g/L de sacarose, 5,5 g/ L de agar, 0,1 mg/L de AIA e as seguintes concentrações de BAP: 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 mg/L. Foram utilizadas 10 repetições por tratamento, e cada unidade experimental foi constituída de um frasco contendo quatro explantes. As culturas foram mantidas em câmara de crescimento com fotoperíodo de 16 h, a 25 ± 1°C, sob 1000 lux. A taxa de multiplicação foi avaliada após 30 dias de inoculação dos explantes no meio de cultura. Foram efetuados dois subcultivos sucessivos, com 30 dias cada. Utilizouse delineamento inteiramente casualizado, sendo os dados submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. Nos dois subcultivos, não foram registradas diferenças significativas entre os meios testados. A taxa média de multiplicação para esta cultivar, variou de 3,4 a 4,8, nos meios testados, durante os dois subcultivos sucessivos.