

**Nayra S. N. Cardoso<sup>1\*</sup>; Cristina G. Santos<sup>1\*\*</sup>; Ivana O. Virgens<sup>1</sup>; Luzimar G. Fernandez<sup>1,2</sup>; Nina C. B. Silva<sup>1,3,4</sup>**

<sup>1</sup> Lab. Estudos em Meio Ambiente/ UCSal, Av Prof. Pinto de Aguiar 2589, CEP 41740-090, Salvador, BA; <sup>2</sup>Instituto de Ciências da Saúde/ UFBA; Faculdade de Tecnologia e Ciências (FTC), Av Paralela s/ n, CEP 41730-040, Salvador, BA; <sup>3</sup> Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal/ UFRJ; <sup>4</sup>; <sup>5</sup> Lab. de Fisiologia Vegetal/ IBCCF/ UFRJ, Av. Trompowsky s/n, CEP 21940-000, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. \* Bolsista IC-UCSAL; \*\* Bolsista FAPESB. E-mail: ninacbs@terra.com.br

*Laguncularia racemosa* (L.) C. R. Gaertn é uma espécie lenhosa típica de manguezal que vem sendo afetada negativamente pela ação de poluentes químicos. Seu desenvolvimento na natureza ocorre de maneira lenta havendo a necessidade de otimizá-lo e acelerá-lo. A cultura de tecidos vegetais é uma ferramenta utilizada na preservação de muitas espécies ameaçadas, contribuindo para manutenção do equilíbrio ambiental. Dentre os problemas mais comuns que dificultam o estabelecimento e cultivo *in vitro* desta espécie está o controle da oxidação dos explantes devido a grande quantidade de compostos fenólicos nos mesmos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da presença ou ausência de luz e do PVP sobre o estabelecimento *in vitro* de *L. racemosa*. Propágulos foram coletados no manguezal do Rio Joanes/ Camaçari/ BA e submetidos a um protocolo de desinfestação superficial. Após a retirada dos tecidos externos do propágulo, os explantes foram divididos em dois lotes sendo um deles submetido a imersão em solução de PVP (200 mg/ L) por 20 minutos. Após este período, o material foi inoculado em tubos contendo 15 mL de meio MS (Murashige e Skoog, 1962) acrescido de vitaminas, mio-inositol, 30 g. L<sup>-1</sup> sacarose, 7g.L<sup>-1</sup> ágar, pH 5,8. Ambos materiais foram submetidos as seguintes condições de cultivo: 1) iluminação com lâmpada fluorescente tipo luz do dia, fluência de 1,6 W.m<sup>-2</sup>, fotoperíodo de 16 h; 2) escuro durante 10 dias após a inoculação e posterior transferência para luz. A cultura foi avaliada quanto a intensidade de oxidação, ao alongamento do eixo cotiledonar e desenvolvimento de raízes. Após 24 dias, os explantes tratados com PVP apresentaram as maiores taxas de contaminação (45,7% e 31,4%). O antioxidante impediu a oxidação em 73,7% dos explantes no claro e 62,5% no escuro. As plântulas mantidas constantemente sob luz do dia apresentaram maior alongamento (3,1 cm) e maior porcentagem de raízes (55,7%), sem diferença estatística entre as tratadas ou não com PVP.

1554

#### Análise mineral de calos de pimenta longa

**Edson José Artiaga de Santiago<sup>1</sup>; Renato Paiva<sup>2</sup>; Rairys Cravo Nogueira<sup>2\*</sup>; Álvaro Augusto Neves Silva<sup>2\*</sup>; Diogo Pedrosa Corrêa da Silva<sup>2\*\*</sup>; Marcelo Murad Magalhães<sup>2\*</sup>**

<sup>1</sup>EMBRAPA/CPATU, Belém, Pará; <sup>2</sup>Universidade Federal de Lavras, Dep. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, C.P. 3037, 37.200-000. \*Bolsista do CNPq; \*\*Bolsista FAPEMIG. E-mail: rairys@yahoo.com.br

A dinâmica da composição mineral é uma área de particular importância, pois os íons inorgânicos estão envolvidos em vários processos associados ao crescimento e desenvolvimento. Este estudo sobre a caracterização de macro e micronutrientes em calos de pimenta longa (*Piper hispidinervium* Candolle, De Candolle), abre perspectivas para o entendimento dos processos envolvidos na organogênese e, futuramente, da embriogênese somática nessa espécie. Amostras de calos com alta (ACR) e baixa capacidade de regeneração (BCR) foram coletadas em dez períodos (0; 7; 14; 21; 28; 35; 42; 49; 56 e 63 dias) da curva de crescimento. As determinações dos teores de N, P, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn destas amostras foram realizadas segundo a metodologia descrita por Malavolta et al. (1997). Os extratos da matéria seca dos tecidos foram obtidos por digestão nítrico-perclórica, cuja extração foi realizada por via seca. Procedeu-se a determinação do fósforo por colorimetria com molibdato e vanadato de amônio. O cálcio, magnésio, cobre, ferro, manganês e zinco foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica e o potássio por fotometria de emissão de chama. Os teores de nitrogênio foram determinados pelo método semi-micro Kjeldhal. Todas as determinações foram baseadas em três repetições. Foram verificadas diferenças significativas entre os dois tipos de calos (ACR e BCR) e períodos Hortic. bras., v.23, agosto, 2005. Suplemento.

dos mesmos para os teores de todos os nutrientes analisados. Com exceção do cálcio, os teores dos macronutrientes estudados decresceram com a idade dos calos. De modo semelhante ao observado para o cálcio, os teores dos micronutrientes aumentaram durante o período de crescimento dos calos. Tanto os macronutrientes como os micronutrientes foram superiores em calos com alta capacidade de regeneração.

1555

#### Curva de crescimento de calos de pimenta longa

**Edson José Artiaga de Santiago<sup>1</sup>; Renato Paiva<sup>2</sup>; Rairys Cravo Nogueira<sup>2\*</sup>; Ester Solange Cerqueira<sup>2</sup>; Eduardo Bucsan Emrich<sup>2\*</sup>**

<sup>1</sup>EMBRAPA/CPATU, Belém, Pará; <sup>2</sup>Universidade Federal de Lavras, Dep. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, C.P. 3037, 37.200-000. \* Bolsista do CNPq. E-mail: rairys@yahoo.com.br

A pimenta longa (*Piper hispidinervium* Candolle, De Candolle), pertencente à família Piperaceae, possui alto teor de safrol nas folhas e ramos jovens. Os subprodutos do safrol são utilizados como agente fixador de fragrância e ingrediente vital em inseticidas piretróides. A partir do estudo da curva de crescimento dos calos, pode-se estabelecer o momento exato de repicagem dos calos para um novo meio ou a possibilidade da sua utilização em suspensões celulares, visando a produção de metabólitos secundários. Com o objetivo de estabelecer a curva de crescimento de calos da pimenta longa, explantes foliares foram inoculados em tubos de ensaio contendo meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 7 g L<sup>-1</sup> de ágar e suplementado com 27,135µM de 2,4-D, 2,685µM de ANA e 8,88µM de BAP. O pH do meio foi ajustado para 5,7 antes da autoclavagem. O experimento foi mantido em ambiente de sala de crescimento em temperatura de 26°C, fotoperíodo de 16h e sob irradiância de fótons de 25 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Os calos foram pesados a intervalos de sete dias, durante 63 dias, totalizando 10 períodos. Em cada período, os calos formados foram avaliados quanto à coloração, peso de matéria fresca e de matéria seca. Pela tendência da curva, verificou-se que a matéria seca dos calos formados ajustou-se ao modelo logístico. O ciclo de desenvolvimento de calos de pimenta longa *in vitro* foi observado em aproximadamente nove semanas de cultivo contínuo. Na fase de crescimento lento, correspondendo até o 21º dia, ocorreu pouco incremento de matéria seca. Na fase de crescimento ativo, que compreendeu do 21º ao 56º dia, ocorreu um incremento de 96% na matéria seca. A fase de estabilização teve duração de 7 dias após o 56º dia. concluiu-se que a repicagem dos calos de pimenta-longa, nas condições acima descritas, deve ocorrer aos 42 dias de cultivo.

1556

#### Determinação do diâmetro e da viabilidade de protoplastos de pimenta longa

**Edson José Artiaga de Santiago<sup>1</sup>; Renato Paiva<sup>2</sup>; Rairys Cravo Nogueira<sup>2\*</sup>; Álvaro Augusto Silva Neves<sup>2\*</sup>; Lenaldo Muniz de Oliveira<sup>2</sup>; Marcelo Murad Magalhães<sup>2\*</sup>**

<sup>1</sup>EMBRAPA/CPATU, Belém, Pará, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal de Lavras, Dep. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, C.P. 3037, 37.200-000, Lavras, MG, Brasil. \* Bolsista do CNPq. E-mail: rairys@yahoo.com.br

A pimenta longa (*Piper hispidinervium* C. DC.) é uma espécie nativa da Amazônia que contém níveis altos de safrol nas folhas. Esse trabalho buscou descrever as alterações no diâmetro e na viabilidade dos protoplastos obtidos a partir de calos de pimenta longa, com alta (ACR) e baixa (BCR) capacidade de regeneração. Para a determinação do número de células, amostras de calos foram coletadas em intervalos de 7 dias ao longo da curva de crescimento dos calos de pimenta longa, cultivados em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com 27,135µM de 2,4-D, 2,685µM de ANA e 8,88µM de BAP. Após centrifugação, estas amostras foram adicionadas ao extrato enzimático constituído de pectinase 2% + celulase 20%. Da suspensão de células lavadas em sorbitol, foram retirados 100 µL e adicionados 100 µL da solução de azul de metileno, utilizada como indicador da viabilidade celular. A partir dessa mistura, alíquotas foram aplicadas em hemacitômetro para a contagem em microscópio óptico. Foram avaliados o número de células viáveis, inviáveis e totais e o diâmetro equatorial e polar das células nos diferentes períodos de indução dos calos. O azul de metileno separou as duas classes de calos, ACR e BCR, indicando

a perda da viabilidade dos protoplastos ao longo do desenvolvimento da massa celular, sendo que aos 0 e 28 dias de cultivo dos calos com ACR e BDR, respectivamente, obteve-se a máxima porcentagem de células viáveis. O diâmetro dos protoplastos em calos com ACR foi de aproximadamente 25µm e nos de BCR foi acima de 35µm. Diante desses resultados conclui-se que o período ideal para obtenção de protoplastos viáveis com alta capacidade de regeneração em pimenta-longa é até o 7º dia de cultivo.

#### 1557

##### **Estabelecimento e cultivo *in vitro* de segmentos caulinares jovens e adultos de caramboleira (*Averrhoa carambola* L.)**

**Núbia Pereira da Costa<sup>1</sup>; Carlos Ferreira Damião Filho<sup>2</sup>; Nivânia Pereira da Costa<sup>1</sup>; Jacinto de Luna Batista<sup>1</sup>; Inez Vilar Guedes<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal da Paraíba - Centro de Ciências Agrárias, CEP 58397-000, Areia, PB, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, Brasil. \* Apoio financeiro da FAPESP. E-mail: nubiacostarn@yahoo.com.br.

Este trabalho teve como objetivo testar fontes de explantes adultos e jovens, tipos de explantes e meios de cultura para o estabelecimento e cultivo *in vitro* da caramboleira. Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos da FCAV/UNESP - Jaboticabal-SP. Como fonte de explantes adultos utilizou-se ramos de planta adulta em plena brotação nas condições de campo e explantes jovens, obtidos de plantas germinadas e mantidas *in vitro* com três meses de idade, todos do cultivar B/10. Dos ramos adultos e jovens foram isolados três tipos de explantes: a micro-estaca, nós e entrenós caulinares que foram inoculados em MS com BAP (0; 0,5 e 1 mg L<sup>-1</sup>) combinados com NAA (0; 0,2 e 5,0 mg L<sup>-1</sup>). Utilizou-se o delineamento estatístico inteiramente casualizado em esquema fatorial 9x3x2 (meios x tipos x fontes de explantes) com três repetições de quatro explantes por tratamento. As avaliações foram realizadas aos 50 dias de cultivo quanto a número de brotos, altura de brotos e número de folhas emitidas. Verificou-se que explantes maduros não brotam; ocorreu formação de brotos em explantes jovens para micro-estaca e nó; o maior número de brotos foi obtido com BAP 0,5 mg L<sup>-1</sup>.

#### 1558

##### **Indução de calos em cotilédones e eixos embrionários imaturo de caramboleira (*Averrhoa carambola* L.)**

**Núbia Pereira da Costa<sup>1</sup>; Carlos Ferreira Damião Filho<sup>2</sup>; Jacinto de Luna Batista<sup>1</sup>; Nivânia Pereira da Costa<sup>1</sup>; Américo Perazzo Neto<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Federal da Paraíba - Centro de Ciências Agrárias, CEP 58397-000, Areia, PB, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, Brasil. \* Apoio financeiro da FAPESP. E-mail: nubiacostarn@yahoo.com.br.

Muitas espécies frutíferas apresentam capacidade regenerativa por processos de organogênese a partir de calos. Visando avaliar a eficiência de 2,4-D e NAA na capacidade de formação de calos em eixos embrionários e cotilédones imaturos de caramboleira, foram conduzidos ensaios no Laboratório de Cultura de Tecidos da FCAV/UNESP - Jaboticabal-SP. Frutos imaturos do cultivar B/10 foram descontaminados superficialmente com álcool 70% por cinco minutos e alvejante comercial 30% (2,5 % cloro ativo) por 30 minutos, destes, removidas as sementes e separados os eixos embrionários e cotilédones, que serviram de explantes e foram testados isoladamente nos meios para indução de calos. Os explantes foram inoculados em MS modificado com 5% de sacarose contendo 2,4-D (0; 1,0; 2,5; 5 mg L<sup>-1</sup>) e também em NAA nas mesmas concentrações, ambos associados com BAP 0,045 mg L<sup>-1</sup>. Utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado, com três repetições de seis explantes cada um. As avaliações foram realizadas aos 60 dias de cultivo quanto à formação de calos através da contagem do número de calos e dimensionamento da massa de matéria fresca. Verificou-se que o 2,4-D induziu formação de calos em todas as concentrações testadas, em todos os eixos embrionários como também, em cotilédones com massa de matéria fresca semelhantes; houve formação de calo em 21% dos eixos embrionários na maior concentração de NAA.

#### 1559

##### **Efeito de diferentes concentrações dos sais do meio MS na indução de calos em explantes foliares de pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb.)**

**Patrícia M. Nicioli<sup>1</sup>; Renato Paiva<sup>1</sup>; Vanessa C. Stein<sup>1</sup>; Eduardo B. Emrich<sup>1</sup>; Breno R. Santos<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Lavras, Dep. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, C.P. 3037, 37.200-000. \* Bolsista do CNPq; \*\* Bolsista CAPES. E-mail: pnnicioli@yahoo.com.br

O cerrado é um dos biomas brasileiros que mais contribui para o fornecimento de frutas com potencial mercadológico destacando-se o pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb.). A micropropagação dessa espécie tem obtido grandes avanços nos últimos anos, sendo que a via indireta, através de calos, ainda carece de muitos estudos. O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito de diferentes concentrações dos sais do meio MS (0%, 25%, 50%, 75%, 100% e 125% dos sais) na calogênese de pequiheiro. Folhas jovens foram coletadas de plantas cultivadas em sala de crescimento, mantidas por 12 horas em água corrente e lavadas em água destilada contendo 2 a 3 gotas de detergente neutro. Em seguida, em câmara de fluxo laminar, foram imersas em álcool etílico 70% (v/v) por 1 minuto, em solução comercial hipoclorito de sódio 50% (v/v) por 15 minutos e lavadas por 3 vezes com água destilada autoclavada, sendo então, retirados explantes com aproximadamente 3 cm<sup>2</sup>. Estes foram inoculados em meio MS, nas concentrações indicadas em cada tratamento, contendo 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 7 g L<sup>-1</sup> de ágar e pH aferido para 5,8 ± 0,1 e suplementado com 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D (ácido 2,4-dicloro-fenoxiacético), 1,0 mg L<sup>-1</sup> de TDZ (thidiazuron) e 800 mg L<sup>-1</sup> de PVP (Polivinilpirrolidone). Os resultados indicaram que somente o tratamento 1 (ausência de sais) diferiu dos demais, apresentando baixa porcentagem de calos (6,5%). Nos demais tratamentos, apesar de não terem diferido estatisticamente, obteve-se maior taxa de calogênese (76%) no meio com 100% da concentração de sais.

#### 1560

##### **Efeito da supressão de macro e micronutrientes na indução de calos em explantes foliares de pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb.)**

**Patrícia Matile Nicioli<sup>1</sup>; Renato Paiva<sup>1</sup>; Eduardo Bucsan Emrich<sup>1</sup>; Rairys Cravo Nogueira<sup>1</sup>; Breno Régis Santos<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Lavras, Dep. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, C.P. 3037, 37.200-000. \* Bolsista do CNPq; \*\* Bolsista CAPES. E-mail: pnnicioli@yahoo.com.br

O uso de espécies frutíferas em programas de revegetação, como o pequiheiro, requer uma produção de mudas contínua. A propagação *in vitro*, via obtenção de calos possibilitará a propagação em larga escala dessa espécie. O objetivo do trabalho foi estudar a influência da deficiência de macro (N, P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (Mn, Zn, B, I, Mo, Cu, Co e Fe) na calogênese de explantes foliares de pequiheiro. Folhas jovens foram mantidas por 12 horas em água corrente e lavadas em água destilada contendo 2 a 3 gotas de detergente neutro. Em seguida, em câmara de fluxo laminar, foram imersas em álcool etílico 70% (v/v) por 1 minuto, em solução comercial hipoclorito de sódio 50% (v/v) por 15 minutos e lavadas por 3 vezes com água destilada autoclavada. Explantes com 1 cm<sup>2</sup> foram inoculados em meio MS com a composição normal de nutrientes e com as devidas supressões, conforme o tratamento, acrescido de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 7 g L<sup>-1</sup> de ágar e pH aferido para 5,8 ± 0,1 e suplementados com 2,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D (ácido 2,4-dicloro-fenoxiacético), 1,0 mg L<sup>-1</sup> de TDZ (Thidiazuron) e 800 mg L<sup>-1</sup> de PVP (Polivinilpirrolidone). Com relação aos macronutrientes, não houve diferenças significativas, entre os resultados obtidos com o tratamento testemunha e com deficiências de Mg e S (75%, 87% e 73% respectivamente), que apresentaram maior porcentagem de formação de calos. Com deficiência de N, não ocorreu formação de calos. Para os micronutrientes, a maior média de calogênese (75%) foi encontrada na testemunha, diferente apenas dos tratamentos com deficiências de Fe, B e Mo.

#### 1561

##### **Germinação *in vitro* e *ex vitro* de sementes de pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb.)**

Hortic. bras., v.23, agosto, 2005. Suplemento.