

**MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE COPO-DE-
LEITE (*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.)**

MÁRCIA DE NAZARÉ OLIVEIRA RIBEIRO

2007

MÁRCIA DE NAZARÉ OLIVEIRA RIBEIRO

MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE COPO-DE-LEITE
(*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Moacir Pasqual

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2007

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Ribeiro, Márcia de Nazaré Oliveira

Multiplicação *in vitro* de copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica* (L.)
Spreng.) / Márcia de Nazaré Oliveira Ribeiro. – Lavras: UFLA, 2007.
83 p. : il.

Orientador: Moacir Pasqual.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Copo-de-leite. 2. Micropropagação. 3. Regulador de crescimento. 4.
Meio de cultura. 5. Qualidade de luz. I. Universidade Federal de Lavras. II.
Título.

CDD-635.93464

MÁRCIA DE NAZARÉ OLIVEIRA RIBEIRO

**MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE COPO-DE-LEITE
(*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 16 de fevereiro de 2007

Profa. Dra. Janice Guedes de Carvalho UFLA

Prof. Dr. Adriano Bortolotti da Silva UNIFENAS

Prof. Dr. Moacir Pasqual
UFLA
(ORIENTADOR)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2007

Aos meus pais, Juarez e Maria,

pelo carinho eterno e apoio incondicional,

Aos meus irmãos, que são meus melhores amigos,

A DEUS, por estar sempre a meu lado,

DEDICO E OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus e à Virgem Maria, por guiar meus passos, iluminar meu caminho e abençoar minha vida.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Agricultura (DAG), pela oportunidade da realização da pós-graduação e pela contribuição para a minha formação acadêmica.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Aos professores Moacir Pasqual, Adriano Bortolotti da Silva e Janice Guedes de Carvalho, pela orientação e ensinamentos, importantes para a minha formação profissional.

Aos professores Edvaldo Aparecido Amaral da Silva, José Darlan Ramos, José Márcio Farias, Telde Natel Custódio, Rubens José Guimarães e ao Magnífico Reitor da Universidade Federal de Lavras Antônio Nazareno Guimarães Mendes, pela amizade e pelos ensinamentos.

Aos amigos e colegas do curso de Fitotecnia, Fabíola, Leila, Keline, Toninho, Harrison, Dulcinéia, Regina, Ricardo, Ronaldo, Dejânia, Ludmilla, Ximena, Luzia, Filipi, Elka e João Paulo, pela ajuda e companheirismo em todos os momentos.

Aos meus amigos Vantuil Rodrigues, Antônio Claret e Antônio Carlos, funcionários do Laboratório de Cultura de Tecidos da UFLA, pelo convívio e ensinamentos.

A minha família.

Enfim, a todos aqueles que contribuíram, de alguma forma, para a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT	ii
CAPÍTULO I. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1 INTRODUÇÃO	2
1.1 Floricultura no mundo	3
1.2 Floricultura no Brasil.....	5
1.3 Floricultura em Minas Gerais	6
1.4 Copo-de-leite	7
1.5 Objetivo geral	9
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	9
2.1 Aspectos gerais da família <i>Araceae</i>	9
2.2 <i>Zantedeschia aethiopica</i> (L.) Spreng.....	10
2.3 Caracterização da espécie	13
2.4 Toxidez	15
2.5 Pragas e doenças	16
2.6 Cultura de tecidos e micropropagação.....	19
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
CAPÍTULO II. MULTIPLICAÇÃO <i>in vitro</i> DE COPO-DE-LEITE (<i>Zantedeschia aethiopica</i> (L.) Spreng.): SULFATO DE ADENINA E 6- BENZILAMINOPURINA.....	28
1 RESUMO.....	29
2 ABSTRACT	30
3 INTRODUÇÃO.....	31
4 MATERIAL E MÉTODOS	33
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
6 CONCLUSÕES	41
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
CAPÍTULO III. MULTIPLICAÇÃO <i>in vitro</i> DE COPO-DE-LEITE (<i>Zantedeschia aethiopica</i> (L.) Spreng.): MEIO MS E SACAROSE.....	47
1 RESUMO.....	48
2 ABSTRACT	49
3 INTRODUÇÃO.....	50
4 MATERIAL E MÉTODOS	51
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
6 CONCLUSÕES	59
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60

CAPÍTULO IV. MULTIPLICAÇÃO <i>in vitro</i> DE COPO-DE-LEITE (<i>Zantedeschia aethiopica</i> (L.) Spreng.): ESPECTROS DE LUZ E SACAROSE.	64
1 RESUMO.....	65
2 ABSTRACT	66
3 INTRODUÇÃO.....	67
4 MATERIAL E MÉTODOS	69
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	70
6 CONCLUSÕES	76
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	77
 ANEXO	 82

RESUMO

RIBEIRO, Márcia de Nazaré Oliveira. **Multiplicação *in vitro* de copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.)**. 2007. 83 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Planta cultivada pela beleza de suas inflorescências, o copo-de-leite tem alto valor comercial, por ser uma das culturas de grande aceitação no mercado. A aquisição de plantas vigorosas é considerada indispensável para que a produção de flores seja satisfatória. Para se produzir uma muda de boa qualidade, são necessários o conhecimento e a aplicação de princípios e técnicas que vão desde a escolha do material propagativo até o manejo da muda. A cultura de tecidos tem sido utilizada para a sua propagação, principalmente visando à limpeza de doenças. Objetivou-se avaliar a multiplicação *in vitro* de copo-de-leite. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras. As plantas utilizadas na montagem dos experimentos já se encontravam estabelecidas *in vitro*. O meio de cultura utilizado foi composto pelos sais do meio MS, com 30 g.L⁻¹ de sacarose, pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, a 120°C, por 20 minutos. O regulador de crescimento utilizado para a multiplicação *in vitro* foi o BAP. Os explantes foram inoculados, de maneira asséptica, em tubos de ensaio, em câmara de fluxo laminar. Foram realizados os seguintes experimentos: 1) concentrações de BAP (0, 2, 4 e 6 mg.L⁻¹) associadas a diferentes concentrações de sulfato de adenina (0, 20, 40 e 60 mg.L⁻¹); 2) concentrações de sais do meio MS (0, 50, 100, 150 e 200 %) e sacarose (0, 15, 30, 45 e 60 g.L⁻¹) e 3) espectros de luz (branca, vermelha, verde e azul) e sacarose (0, 15, 30, 45 e 60 g.L⁻¹). Na multiplicação *in vitro*, melhores resultados foram obtidos com o emprego de 5 mg.L⁻¹ de BAP, 125 % de sais do meio MS e concentrações de 30 e 45 g.L⁻¹ de sacarose associada à luz branca.

*Orientador: Moacir Pasqual – UFLA.

ABSTRACT

RIBEIRO, Márcia de Nazaré Oliveira. **Calla lily (*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.) *in vitro* multiplication.** 2007. 83 p. Dissertation (Master in Agronomy/Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.*

Among many reasons plants are cultivated because of its inflorescence beauty. Calla lily has high commercial value due to its large acceptance in the market. The acquisition of vigorous plants is considered indispensable for the satisfactory flower production. To product seedlings with quality, is necessary the knowledge and application of principle and technique from the choice of the propagation material until the management of the seedlings. The tissue culture is used for propagation of calla lily mainly aiming to produce materials free from disease. However, the aim of this work was to evaluate *in vitro* multiplication of calla lily. The experiments were carried out in the Tissue Culture Laboratory at Department of Agriculture from the Federal University of Lavras. The plants used in these experiments were already *in vitro* established. The culture medium used was the MS medium, 30 g.L⁻¹ sucrose; the pH was adjusted for 5.8 before sterilization, at 120°C, per 20 minutes. The growth regulation used for *in vitro* multiplication was the BAP. The explants were inoculated, aseptically, in tube and in flow laminar. There were performed the following experiments: 1) BAP concentrations (0, 2, 4 and 6 mg.L⁻¹) and different concentrations adenine sulphate (0, 20, 40 and 60 mg.L⁻¹); 2) concentrations of salts MS medium (0, 50, 100, 150 and 200 %) and sucrose (0, 15, 30, 45 and 60 g.L⁻¹) and 3) light spectrum (white, red, green and blue) and sucrose (0, 15, 30, 45 and 60 g.L⁻¹). The better results for *in vitro* multiplication were obtained with the use of 5 mg.L⁻¹ BAP, 125 % of salts MS medium and 30 and 45 g.L⁻¹ of sucrose concentrations associated white light.

* Adviser: Moacir Pasqual – UFLA.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO

O uso de flores e plantas ornamentais data desde a Antiguidade. Existem relatos de descoberta em sítios arqueológicos, nos quais os locais em que se enterravam os membros do grupo eram adornados com flores e algumas espécies, como o lírio branco (*Lilium candidum*), que eram cultivadas para esse fim. O lírio branco foi registrado em pinturas da civilização minóica, sendo este o registro mais antigo do cultivo desta espécie (Aki & Perosa, 2002; Wikipédia, 2005). As flores eram cultivadas em jardins e destinadas à ornamentação de casas, palácios e templos. Com o passar do tempo, a demanda por esses produtos tornou-se tão intensa que incentivou o cultivo para fins comerciais (Almeida, 2005).

O valor monetário, dos produtos da floricultura, tem aumentado significativamente nas duas últimas décadas, com grande potencial para continuar crescendo no mercado nacional e internacional (Jain, 2002). Atualmente, a floricultura é uma atividade dinâmica rentável, exigente em tecnologia, principalmente quando os produtos são destinados à exportação, e em conhecimento técnico; é um agronegócio, pois gera um elevado número de empregos diretos e indiretos (Cançado Júnior, 2005). No Brasil, a floricultura tem se destacado como um importante segmento da agricultura, com grande crescimento nas exportações. Esse incremento se deve ao enorme potencial nacional para a produção de diversas espécies de flores, em função da amplitude de climas e solos (Claro et al., 2001).

Por volta de 156 gêneros de plantas ornamentais são propagadas por cultura de tecidos em diferentes laboratórios comerciais no mundo. A cota dos maiores produtores é: Países Baixos, 33%; Japão, 24%; Itália, 11%; USA, 12%; Tailândia, 10% e outros 14%. Os maiores países exportadores são: Países

Baixos, 59%; Colômbia, 10%; Itália, 16%; Israel, 4%; Espanha, 2%; Kênia 1% e outros 18%. Os quatros principais exportadores (Países Baixos, Colômbia, Itália e Israel) respondem por 80% do mercado mundial. A cota dos países em desenvolvimento (África, Ásia e América Latina) é menor que 20% (Rajagopalan, 2000; Schiva, 2000). Chebet et al. (2003) relataram que técnicas biotecnológicas têm sido utilizadas para melhorar o resultado da produção.

A floricultura, no sentido mais amplo, abrange o cultivo de plantas ornamentais e flores, tanto flores para corte quanto para vasos, plantas envasadas, produção de sementes, bulbos e mudas arbóreas (Marques & Caixeta Filho, 2003). Dentre as espécies cultivadas para corte, destaca-se o copo-de-leite, muito apreciado pela beleza e versatilidade, utilizado na composição de jardins e em diversos arranjos florais (Almeida, 2005). Suas inflorescências simbolizam a pureza e, por isso, é bastante utilizada em casamentos (Almeida & Paiva, 2004).

O fortalecimento da floricultura brasileira é essencial para gerar grande número de empregos, tanto no meio rural quanto nas cidades, e para a sobrevivência de inúmeras propriedades e empresas agrícolas. Constitui-se numa alternativa eficiente para o desenvolvimento econômico e social, evitando, acima de tudo, o êxodo rural, o crescimento do desemprego, da fome e da violência urbana.

1.1 Floricultura no mundo

O mercado mundial de flores e plantas ornamentais é avaliado em 75 bilhões de euros anuais. Deste total, 60 bilhões de euros advêm do setor de flores e plantas, 14 bilhões do mercado de mudas e o restante da produção e circulação de bulbos. Devido às mais diversas condicionantes sócio-econômicas, culturais, geoclimáticas e ecológicas, o índice do consumo per capita de flores e plantas

ornamentais é extremamente diferenciado entre os países. As principais características e os diferentes potenciais de crescimento do consumo de flores e plantas ornamentais no mercado externo estão baseados, principalmente nas diferenças quanto às condições sócio-econômicas dos diversos países e continentes (Junqueira & Peetz, 2005).

O fluxo no comércio internacional é avaliado como sendo da ordem de U\$S 9 bilhões anualmente, hoje concentrado em países como Holanda, Colômbia, Itália, Dinamarca, Bélgica, Quênia, Zimbábue, Costa Rica, Equador, Austrália, Malásia, Tailândia, Israel, EUA (Havaí) e outros. A Holanda, principal cliente internacional da floricultura brasileira, concentra suas aquisições em mudas de outras plantas ornamentais, principalmente de crisântemos (44,29%), bulbos em repouso vegetativo (40,09%), flores frescas (12,42%) e folhagens secas (3,20%). Para os EUA, a preferência de importações são as flores frescas, principalmente rosas (56,82%), mudas de outras plantas ornamentais (22,44%), folhagens secas (10,51%), bulbos (9,64%) e mudas de orquídeas (0,58%). A Itália, terceiro maior comprador em importância econômica, concentra suas compras em mudas de outras plantas ornamentais (84,57%), folhagens secas (9,92%) e folhagens frescas (2,52%) (Junqueira & Peetz, 2005).

Atualmente, os mercados prioritários para o crescimento das exportações brasileiras são: Alemanha, Holanda, Estados Unidos da América, Itália, França, Inglaterra, Japão e Argentina. É evidente o interesse crescente dos mercados dos países ibéricos (Portugal e Espanha) pelos produtos brasileiros, principalmente para flores e folhagens tropicais. Como mercados opcionais, encontram-se a Rússia e os Emirados Árabes (Junqueira & Peetz, 2005).

1.2 Floricultura no Brasil

O início do cultivo de plantas ornamentais no Brasil foi com a colônia portuguesa, cuja produção supria o mercado em datas comemorativas, como o Dia das Mães, dos Namorados, Finados e Natal. A floricultura nacional, até meados da década de 1960, era pouco expressiva, tanto econômica como tecnologicamente, caracterizando-se como uma atividade paralela a outros setores agrícolas (Castro et al., 1992). Os principais cultivos localizavam-se nas cidades e capitais do Sul e Sudeste do país, não tendo quase expressão no contexto da agricultura nacional. No início deste século, a floricultura era destinada ao cultivo de flores nos jardins e quintais das residências, onde desempenhava função paisagística ou era empregada na decoração de interiores.

Até muito recentemente, a floricultura comercial no Brasil concentrava-se, quase que exclusivamente no estado de São Paulo, particularmente em Atibaia e Holambra. Esse panorama começou a mudar nos últimos anos, quando notaram-se o crescimento e a consolidação de importantes pólos florícolas no Rio Grande do Sul, Paraná, Santa Catarina, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Goiás, Distrito Federal e na maioria dos estados do Norte e Nordeste (Junqueira & Peetz, 2003).

As últimas estatísticas produzidas para o setor mostraram que a atividade já contabilizava, em 2003, números extremamente significativos. Eram mais de 4 mil produtores, cultivando numa área de 5,2 mil hectares anualmente, em 304 municípios brasileiros. Em termos globais, esta atividade responde pela geração de mais de 120 mil empregos e, segundo dados do Ibraflor, a floricultura gera, na média nacional, 3,8 empregos diretos/ha (Junqueira & Peetz, 2003).

As exportações dos produtos da floricultura do Brasil somaram, em 2005, US\$ 23,5 milhões, valor esse que superou, em 20,96% os resultados obtidos no ano anterior. A participação nacional ainda é modesta, representando

0,22% no fluxo internacional de flores e plantas ornamentais. Contudo, o potencial brasileiro permite um crescimento para cerca de 1,5%, nos próximos anos (Junqueira & Peetz, 2003).

As exportações brasileiras de flores e plantas ornamentais somaram pouco mais de US\$ 15 milhões, no período de janeiro a junho de 2006, valor 7,95% maior que o obtido no mesmo período do ano anterior. Como decorrência, a balança comercial da floricultura mostrou no mesmo período, saldo positivo de US\$ 9,825 milhões. No semestre, as importações totais, fecharam em US\$ 5,265 milhões, com valor equivalendo a 34,89% do total dos valores exportados (Junqueira & Peetz, 2006).

A participação brasileira é concentrada na exportação de mudas de flores e plantas ornamentais (45,52%); bulbos (29,20%); flores e botões frescos para corte (18,45%); folhagens, folhas e ramos de plantas secos (5,67%), além de outros produtos que incluem mudas de orquídeas, folhagens e ramos cortados frescos para buquês e ornamentações, musgos, líquens e mudas de outras plantas. As folhagens brasileiras têm boa aceitação no mercado internacional (Junqueira & Peetz, 2003).

1.3 Floricultura em Minas Gerais

Em Minas Gerais, destacam-se, na produção de rosas de corte, as regiões de Barbacena, Munhoz e Antônio Carlos. As regiões de Senador Amaral e Andradas estão recebendo muitos produtores paulistas de flores, principalmente de Holambra, que estão ampliando seus horizontes. A região foi escolhida devido ao clima e à altitude, favoráveis ao cultivo de muitas espécies ornamentais (Landgraf, 2006).

A produção de plantas ornamentais em Minas Gerais estava localizada nas regiões de Barbacena, Juiz de Fora, São João Del Rei, Belo Horizonte,

Congonhas, Mateus Leme, Sete Lagoas e Diamantina. Expandiu-se para Ituiutaba, Uberaba, Uberlândia, Viçosa, Patos de Minas, Paracatu, Teófilo Otoni, Governador Valadares, Montes Claros, Poços de Caldas, Alfenas, Itajubá, Lavras, Pouso Alegre, Munhoz, Andradas, Florestal e Joatuba, entre outros (Silveira, 1993).

Na floricultura de corte mineira destacam-se rosas, crisântemos, cravos, áster, gladiólos e produtos da floricultura silvestre. As demais plantas ornamentais são azaléias, primaveras e dracenas (mudas para jardins), plantas da família *Araceae* (folhagens), violeta-africana, samambaia (plantas envasadas) e espécies arbóreas. No total, são exploradas, comercialmente, 120 diferentes espécies de plantas ornamentais (Landgraf & Paiva, 2005).

Na região central de Belo Horizonte existe o mercado de flores e plantas ornamentais e mais recentemente, foi criada a Câmara Técnica de Floricultura na Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (SEAPA), que dará suporte à formulação das políticas do agronegócio no estado. A câmara conta com a participação de produtores, setores dos governos estaduais e federal, técnicos e pesquisadores (Minas Gerais, 2005).

1.4 Copo-de-leite

Espécies do gênero *Zantedeschia* estão classificadas em dois grupos importantes. O primeiro grupo está caracterizado por *Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng., conhecido popularmente como copo-de-leite branco, que apresenta florescimento no inverno e as folhas não senescem durante o inverno em seu habitat natural. O segundo grupo contém espécies que se caracterizam pela morte completa das folhas durante o inverno e pelo florescimento durante a primavera e o verão (Bloomz, 2002).

As espécies do segundo grupo estão distribuídas em regiões da África do Sul. São também encontradas no norte da Angola, Kenya, Malawi, Zâmbia, Zimbawe e Nigéria, regiões costeiras e montanhosas, com altitude entre 1.200 e 2.000 m, cujas temperaturas médias estão restritas, durante o inverno, ao redor de 10°-11°C, com temperatura mínima entre 2° e 3°C. No verão, as temperaturas médias alcançam ao redor de 20°C, com a máxima atingindo 27°C (Bloomz, 2002; Letty, 1973). Segundo Funnell (1994), este regime de temperatura do seu hábitat corresponde a condições ótimas de cultivo para as espécies do segundo grupo. As espécies decíduas de copo-de-leite formam um bulbo que hiberna no inverno e sobrevive por longos períodos de estiagem. Estes bulbos, normalmente, têm numerosas gemas que, em seu hábitat, brotam em condições adequadas de suprimento de água. No ano de 1900, plantas de copo-de-leite foram difundidas na Nova Zelândia, por meio de sementes de ambos os grupos. Dessas sementes incluem-se cinco variedades de florescimento de verão e, a partir daí, surgiram as primeiras hibridações. Atualmente, existem diversos híbridos de copo-de-leite colorido, comercializados por empresas da Nova Zelândia (Bloomz, 1997; 2002). As plantas híbridas podem se originar de sementes, divisão de bulbos ou cultura de tecidos. Comercialmente, estão disponíveis aos produtores plantas oriundas de cultura de tecidos ou divisão de bulbos (Bloomz, 2002).

A cultura do copo-de-leite apresenta-se como opção interessante do setor, tendo em vista o exotismo, a beleza e as cores vivas de suas flores. No Brasil, seu cultivo é muito recente, praticado por poucos produtores, sendo encarada como novidade de grande potencial para o mercado brasileiro. Comercialmente, a planta é propagada por bulbo, tendo seu ciclo completo, a depender da região, época de plantio e espécie, em torno de 60 a 120 dias. Atualmente, as informações técnicas disponíveis, para o cultivo de copo-de-leite

colorido, são restritas e estão limitadas às conhecidas e recomendadas para as áreas comerciais de campo aberto da Nova Zelândia (Muçouçah, 2002).

É uma cultura largamente utilizada como planta ornamental. Por meio do melhoramento genético, obtiveram-se variedades que proporcionaram grande diversidade de colorações em suas flores. Algumas dessas variedades estão sendo micropropagadas por empresas com a finalidade de produzir e comercializar tubérculos matrizes de qualidade (Lischka, 2005).

1.5 Objetivo geral

Objetivou-se melhorar a multiplicação de mudas de copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopoica* (L.) Spreng.) produzidas *in vitro* e reduzir os custos de produção, por meio da utilização de reguladores de crescimento, concentrações de meio de cultura MS, sacarose; e alterações espectrais com lâmpadas fluorescentes coloridas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais da família *Araceae*

A família *Araceae* inclui plantas angiospérmicas, monocotiledóneas. É composta por 107 gêneros e cerca de 3.000 espécies, na maioria tropicais ou subtropicais. É frequente nos trópicos da América, ainda que se distribua nas regiões temperadas européias setentrionais, até aos trópicos da mesma região (<http://pt.wikipedia.org/wiki/Araceae>).

As plantas são terrestres ou epífitas, geralmente herbáceas. O caule nas terrestres é curto e subterrâneo, nas epífitas é comprido e trepador. As raízes são tuberosas nas terrestres e adventícias nas epífitas (Carvalho, 2001).

As folhas são basais, nas espécies epífitas e, nas lianas, distribuem-se alternadamente pelo caule. São pecioladas, grandes, coriáceas, inteiras ou recortadas ou lobadas. São exceções entre as monocotiledóneas, quanto ao formato, nervação e coloração distinta nas duas faces (<http://pt.wikipedia.org/wiki/Araceae>).

A inflorescência é do tipo espádice, protegida por uma espata de cor verde ou colorida. As flores são pequenas, sésses, andróginas ou unissexuais. O perianto quase sempre é presente nas flores andróginas e ausente nas unissexuais. Quando presente, é constituído por 4 a 6 tépalas, livres, ou não, entre si. Androceu, em geral, com 2 a 4 estames. Gineceu de ovário súpero ou ínfero, com 1 a vários lóculos contendo número variável de óvulos. Fruto tipo baga. (Carvalho, 2001).

Os principais representantes desta família são: *Alocasia* spp (taioba), *Anthurium* spp (antúrios), *Caladium x hortulanum* Birds (tinhorão), *Calocasia esculaneta* (L.) Schott (inhame), *Dieffenbachia amoena* Hort. (comigo-ninguém-pode), *Monstera deliciosa* Liebm (banana-do-mato, costela-de-adão), *Philodendron* spp (filodendro, imbé), *Pistia stratiotes* L. (alface-d'água), *Spathiphyllum wallisii* Regel (bananeira-branca), *Xanthosoma* spp (mangarito, taiá) e *Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng. (copo-de-leite).

2.2 *Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.

O nome *Zantedeschia* é devido ao professor e botânico italiano Giovanni Zantedeschi (1773-1846). Conhecida como arum, calla lily, lírio-do-nilo ou copo-de-leite, é uma monocotiledônea ornamental, pertencente à família

Araceae e nativa do continente africano. Além da espécie com flores brancas (*Zantedeschia aethiopica*), existem outras seis espécies de *Zantedeschia* na África do Sul, com flores variando entre rosa, amarelo, laranja e marrom. (*Z. albomaculata*, *Z. elliottiana*, *Z. jucunda*, *Z. odoratum*, *Z. pentlandii* e *Z. rehmannii*). É conhecida mundialmente como flor de corte e pela diversidade de variedades e híbridos (Kritzing et al, 1998).

Híbridos de *Zantedeschia* foram desenvolvidos na Nova Zelândia, a partir do cruzamento das espécies *Z. rehmannii*, *Z. elliottiana*, *Z. albomaculata* e *Z. pentlandii* (Funnell, 1993 citado por Brooking & Cohen, 2002). Para a rápida multiplicação de plantas selecionadas, estão sendo utilizadas técnicas de micropropagação e estes híbridos estão sendo produzidos por todo o mundo para flor de corte (Brooking & Cohen, 2002).

Na sua forma nativa ocorre em terrenos úmidos ou na margem de lagos. Possui folhas verdes, de aspecto brilhante, com hábito de crescimento formando touceira (Brickell et al., 1996). É uma herbácea robusta, entouceirada, de 0,60-1,0 m de altura, rizoma vigoroso e muito florífera (Lorenzi & Souza, 2001). Floresce em abundância nos meses mais frios, entre maio e setembro. No estado de Minas Gerais, a região Centro-Sul apresenta características favoráveis ao cultivo dessa espécie e, nessa região, já existem pequenos produtores que comercializam as inflorescências em cidades próximas ao local de cultivo (Almeida & Paiva, 2005).

Sua propagação pode ser feita por meio de sementes, por divisão de touceiras e ou rizomas e, ainda, por cultura de tecidos. A propagação por sementes não é muito recomendada, por ocorrer desuniformidade na formação das mudas e devido à polinização cruzada (Salinger, 1991). É de extrema importância que as mudas sejam adquiridas de empresas idôneas e que forneçam mudas de qualidade e, mesmo com todos esses cuidados, pode haver risco de

contaminação, principalmente por viroses. Sendo assim, mudas micropropagadas garantem melhores resultados na produção.

O cultivo em seu habitat ocorre em áreas de brejo e beira de rios, no entanto, para fins comerciais, não se recomenda o plantio nessas áreas. O encharcamento constante do solo dificulta o controle de doenças, principalmente a podridão-mole, causada pela bactéria *Erwinia carotovora*. Atualmente, o cultivo é feito em áreas bem drenadas, porém, com irrigação constante, para manter a umidade elevada. A temperatura ideal ao seu desenvolvimento varia entre 16°C e 22°C, mas suporta até 4°C (Salinger, 1991). Existem relatos de produtores que conseguiram boa produção em regiões com temperaturas superiores.

Recomenda-se utilizar NPK 10:10:10, na razão 250 kg/1000 m². Esta adubação deve ser feita no plantio, incorporando-a ao solo (Salinger, 1991). Esta espécie responde bem à adubação orgânica e devem-se utilizar, no plantio, 20 litros de esterco de curral/m² (Almeida & Paiva, 2004). Não se devem fornecer altos níveis de nitrogênio, pois este estimula maior desenvolvimento vegetativo em detrimento da floração (Salinger, 1991; Clemens et al., 1998).

O ponto de colheita é determinado pela abertura da espata que além de aberta, deve estar com a ponta virada para cima (Nowak & Rudnicki, 1990). Não se deve coletar flores com pólen; após a polinização, a longevidade é menor. As inflorescências não devem ser cortadas e sim arrancadas (Salinger, 1991).

Apesar do aspecto sensível das inflorescências, o copo-de-leite é uma cultura bastante rústica e de fácil cultivo. No entanto, em um plantio comercial é necessário um acompanhamento técnico para garantir máxima produção, disponibilizando ao mercado inflorescências de alta qualidade (Almeida & Paiva, 2004).

2.3 Caracterização da espécie

A inflorescência, que envolve as verdadeiras flores, é composta de espata (coloração branca) e espádice (coloração amarela), o qual possui a parte superior formada por flores masculinas e a parte inferior por flores femininas (Figura 1). Após a polinização, realizada por insetos, são formados os frutos, os quais atraem pássaros, que dispersam as sementes (Salinger, 1991). A composição química das inflorescências e das folhas pode ser vista na Tabela 1 e a triagem fitoquímica da espata na Tabela 2.

TABELA 1. Análise química para inflorescências e folhas de copo-de-leite.

PARTE	MACRO E MICRONUTRIENTES										
	%	%	%	%	%	%	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm
	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Mn	Zn	Fe
Espata	2,43	0,33	2,75	0,67	0,24	0,26	33,1	17,3	566,3	143,3	114,9
Espádice	3,44	0,60	2,87	0,67	0,47	0,41	22,8	27,2	565,1	111,6	78,2
Folha	3,66	0,60	3,47	0,89	0,39	0,63	70,1	11,4	68,7	314,8	186,4

FONTE: Laboratório de Análise Foliar, Departamento de Química. UFLA, Lavras, MG, 2007.

TABELA 2. Triagem fitoquímica realizada com extrato metanólico na espata de copo-de-leite.

METABÓLITOS	RESULTADOS
Ácidos orgânicos	+
Açúcares redutores	+
Polissacarídeos	+
Proteínas e aminoácidos	+
Taninos	-
Catequinas	-
Flavonóides	+
Glicosídeos cardíacos	-
Sesquiterpenlactonas e outras lactonas	-
Azulenos	+
Esteróides e triterpenóides	+
Depsídeos e depsidonas	+
Derivados de cumarina	+
Saponina espumílica	-
Alcalóides	+
Antraquinonas	+

*presença (+) *ausência (-)

FONTE: Laboratório de Química, Departamento de Química. UFLA, Lavras, MG, 2007.

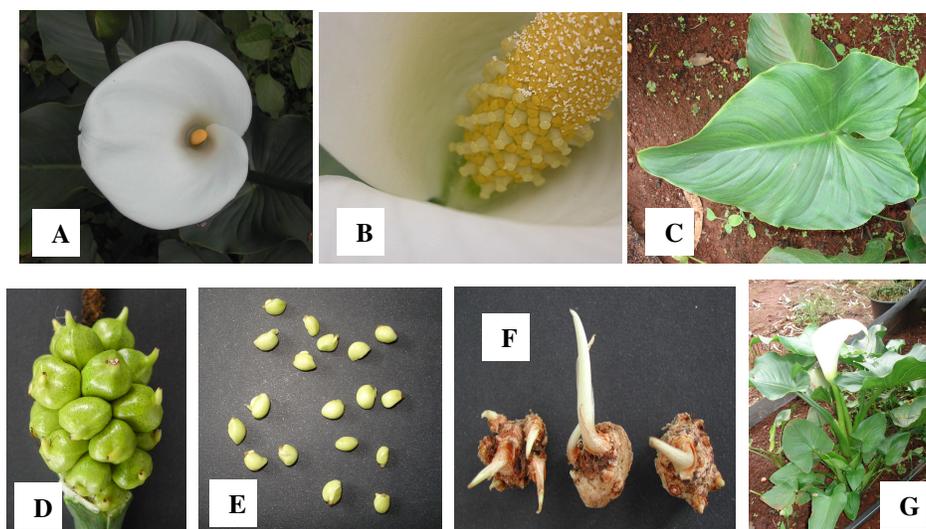


FIGURA 1. Aspecto visual da inflorescência: (A), detalhe da parte feminina e masculina da flor (B), folhas (C), fruto (D), sementes (E), rizomas (F) e planta adulta (G) de *Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng. UFLA, Lavras, MG, 2007.

2.4 Toxidez

Esta planta, assim como outras da família *Araceae*, tem como característica anatômica a presença de grande número de idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio, na forma de agulhas, denominados ráfides. Estes idioblastos encontram-se em todas as partes da planta e são ejetores. Nos tecidos vegetais, encontram-se também quantidades apreciáveis de ácido oxálico e seus sais solúveis, os quais, segundo alguns autores, podem promover um quadro de intoxicação por oxalato (Schenkel et al., 2003). A ingestão de qualquer parte da planta pode causar sérios danos à saúde, como irritação em lábios e língua, edema (inchaço), salivação abundante, dificuldade de engolir e asfixia. O contato com os olhos pode provocar irritação (<http://sbrt.ibict.br/upload/sbrt1310-3.html>). As pessoas envolvidas no cultivo

desta espécie devem utilizar luvas ao trabalhar com os rizomas, nos tratos culturais e na colheita (Almeida & Paiva, 2004).

2.5 Pragas e doenças

Em copo-de-leite, as pragas atacam, geralmente, as folhas e prejudicam o desenvolvimento da cultura. Danificam a espata e a espádice, comprometendo a qualidade das inflorescências, além de serem vetores de muitas doenças. As principais pragas são: tripes, pulgões, abelhas-irapuá e lesmas (Tabela 3).

TABELA 3. Principais pragas que afetam a cultura de copo-de-leite.

PRAGA	NOME CIENTÍFICO	SINTOMAS
Tripos	<i>Trips tabaci</i>	Partes vegetais manchadas com pontuações necrosadas.
Pulgão	<i>Myzys persicae</i>	Amarelecimento, enrugamento, deformação das folhas e definhamento nas plantas.
Irapuá	<i>Trigona spinepes</i>	Injúrias graves na espádice.
Lesma	<i>Bradybaena similaris</i>	Injúrias graves nas folhas.

FONTE: Salinger (1991) e Imenes e Bergmann (2001).

Das doenças, a mais severa é a podridão-mole, causada pela bactéria *Erwinia carotovora*. Os sintomas afetam as hastes, que se tornam verde-escuras, apresentando apodrecimento, com odor forte e desagradável, ocorrendo a morte. Além disso, o rizoma pode apodrecer. Para prevenir essa doença, deve-se evitar o cultivo em locais com umidade excessiva, como brejos e também adubação nitrogenada em excesso, pois, com o fornecimento excessivo de nitrogênio, a planta torna-se tenra e susceptível à infecção pela *Erwinia*, assim como por outros patógenos (Salinger, 1991). Plantas com sintomas de podridão-mole devem ser eliminadas (Hertogh, 1992) (Tabela 4).

TABELA 4. Principais doenças fúngicas que afetam a cultura e copo-de-leite.

DOENÇA	FUNGO	SINTOMAS
Antracnose	<i>Colletotrichum</i> sp.	Ocorrem lesões deprimidas e alongadas de cor parda com exsudação rosada nas inflorescências.
Botrytis	<i>Botrytis</i> sp.	Ocorrem pequenas manchas nas inflorescências e folhas.
Mancha das folhas	<i>Coniothecium richardiae</i>	Manchas ásperas circulares ou elípticas nas folhas.
Mancha de cercospora	<i>Cercospora</i> sp.	Manchas amareladas nas folhas.
Podridão do rizoma	<i>Rhizoctonia</i> sp.	Lesões na parte debaixo do rizoma e o broto é afetado no início da emergência.
Podridão das raízes	<i>Phytophthora cryptogea</i>	Apodrecimento das raízes da ponta para o rizoma, ficando com aparência encharcada. Amarelecimento das margens das folhas.
Podridão das raízes	<i>Pythium</i> sp.	Apodrecimento das raízes.

FONTE: Forsberg (1976), Pitta (1990) e Salinger (1991).

A bactéria *Erwinia carotovora* é do tipo bastonete, gram-negativa, peritríquia, não capsulada. Vive no solo como saprófita, podendo afetar dezenas de espécies vegetais. Seu desenvolvimento é favorecido por temperaturas entre 25° a 30°C e alta umidade (Kimati et al., 1995).

A podridão mole é responsável por consideráveis perdas na floricultura mundial. Na região de Niagara, no Canadá, são registradas perdas anuais superiores a 1 milhão de dólares, causadas por podridão mole em calla lily, cyclamen e poinsettia. Entre estas espécies, calla lily é responsável por quase metade destas perdas (Gracia-Garza 2004).

A infecção pela bactéria ocorre por meio de ferimentos provocados por insetos, pelo manuseio, ou ainda, devido a abrasões sofridas pelo tubérculo em condições de campo. No interior dos tecidos, a bactéria passa a produzir enzimas

que desdobram as substâncias pectínicas da lamela média e a celulose da parede celular. Com isso ocorre o extravasamento de água para os espaços intercelulares e a morte das células afetadas (Kimati et al., 1995).

O órgão atacado pode atuar como fonte de inóculo, tanto em condições de campo como de armazenamento, propiciando a sobrevivência do patógeno até o ciclo secundário. Dessa forma, uma das principais formas de disseminação da doença é por meio da presença de tubérculos afetados misturados com tubérculos sadios (Kimati et al., 1995).

Relatos de vírus em aráceas começaram em 1930, com a constatação de manchas necróticas, cloróticas e faixas onduladas em folhas de *Anthurium andraeanum* e, a partir daí, mais de 25 espécies de vírus foram relatadas. O vírus mais amplamente disseminado, dentre as aráceas cultivadas, é o *Dasheen mosaic virus* (DsMV ou vírus do mosaico do inhame). A descrição desse vírus coincide com o “boom das folhagens”, ocorrido na década de 1970. Dependendo da espécie de arácea e das condições ambientais, o DsMV pode não induzir sintomas (latência) ou, então, induzir diferentes tipos de sintomas. No Brasil, o DsMV é o vírus mais freqüente em aráceas, tendo sido relatado em: *Alocasia macrorrhiza*, *Amorphophalus konjak*, *Anthurium scherzerianum*, *Colocasia esculenta*, *Syngonium wendlandii*, *Xanthosoma atrovirens* e *Zantedeschia aethiopica* (Rivas, 2006).

Novos vírus foram isolados de *Zantedeschia* spp. O *Zantedeschia mosaic virus* (ZaMV-KR), que causa sintomas de malformação, ocorre na província de Kangwon, na Coreia, em regiões que cultivam copo-de-leite, desde 2000 (Kwon et al., 2002). O *Zantedeschia mild mosaic virus* (ZaMMV) foi identificado na Tailândia (Huang et al., 2006).

Os sintomas de viroses são caracterizados por listras brancas e lesões circulares nas folhas, que se tornam necróticas, à medida que a infecção evolui.

Folha e flores também podem ficar retorcidas com as bordas enroladas (Forsberg, 1976). As plantas afetadas devem ser eliminadas e destruídas.

2.6 Cultura de tecidos e micropropagação

A cultura de tecidos como técnica consiste em isolar uma parte da planta (explante) e proporcionar-lhe, artificialmente, sob condições assépticas, os recursos físicos e químicos apropriados, a fim de que as células expressem seu potencial intrínseco ou induzido para regenerar outras células, tecidos e órgãos (Villalobos & Thorpe, 1991). Micropropagação pode ser definida como propagação clonal massal de um genótipo selecionado por técnicas de cultura *in vitro*.

De forma geral, os métodos convencionais de propagação vegetativa são incapazes de produzir um grande número de plantas para a recuperação de espécies ameaçadas, bem como para programas comerciais de propagação. A cultura de tecidos está justificada, principalmente na obtenção massal de mudas uniformes, de alta qualidade e livres de doenças. Além disso, permite multiplicação rápida e geneticamente confiável, preservação e propagação de espécies ameaçadas (Grattapaglia & Machado, 1998). Uma das principais vantagens da micropropagação é a maior rapidez em relação a outros métodos de propagação convencional utilizados, facilitando a propagação quando as tecnologias convencionais são difíceis ou, até mesmo, impossíveis de serem realizadas (George, 1993).

Plântulas obtidas por meio da germinação de sementes *in vitro* são uma estratégia interessante para o estabelecimento de culturas *in vitro*. O elevado número de explantes assépticos obtidos por este método permite que praticamente todas as partes da plântula sejam utilizadas como explantes (Mercier & Kerbauy, 1997). A germinação de sementes *in vitro* é muito utilizada

na multiplicação de plantas ornamentais com baixa viabilidade de sementes ou na produção de explantes assépticos. Em orquídeas, a maioria das espécies possui sementes com embriões imaturos (indiferenciados) e, sob condições naturais do hábitat, poucas plântulas se desenvolvem até a fase adulta (Stancato et al., 1998).

Nos últimos anos, vários pesquisadores em diferentes laboratórios passaram a empregar técnicas de cultura de tecidos vegetais para a propagação massal de bromélias ornamentais. Mais recentemente, técnicas *in vitro* têm sido empregadas para a propagação de espécies raras ou ameaçadas de extinção (Mercier & Kerbauy, 1997). Estas técnicas podem ser utilizadas em escala comercial, diminuindo a extração de bromélias do seu hábitat.

Meios de cultura fornecem substâncias essenciais para o desenvolvimento dos tecidos, sendo compostos por combinações de sais minerais, carboidratos, vitaminas e reguladores de crescimento, podendo ser geleificados ou líquidos. Sua composição sofre variação conforme a necessidade de cada espécie. Durante a fase de multiplicação, não basta conseguir altas taxas; em alguns casos, o importante é obter uma taxa média satisfatória, com o mínimo de variação de explante para explante (Grattapaglia & Machado, 1998).

Em crisântemo (*Dendranthema morifolium*), o número de brotos obtidos na micropropagação foi inversamente proporcional à concentração de TDZ no meio de cultura, tendo o tratamento isento de TDZ apresentado o maior número de brotos (Salgado et al., 1998). Esses dados são similares àqueles obtidos por Han et al. (1997) para *Ficus benjamina* Wall, em que concentrações de TDZ acima de 0,01 mg.L⁻¹ não se mostraram efetivas na multiplicação de brotos desta espécie. Em trabalho com crisântemo, Salgado et al. (2001) observaram que o número de brotos foi menor em tratamentos contendo benomyl.

Em *Nidularium innocentii*, a taxa média de proliferação de gemas de 23 brotos/explante foi obtida em meio de cultura MS suplementado com 2 µM de

ANA e 4 μM de BAP. Para *Vriesea carinata* e *Wittrockia superba*, nesse mesmo tratamento, a taxa média de multiplicação foi 15,4 e 21,8 brotos/explante, respectivamente (Alves & Guerra, 1995).

A bromélia *Vriesea gigantea*, cultivada em meio MS suplementado com paclobutrazol (PBZ) (4 μM), apresentou, aos 100 dias, uma taxa de multiplicação de 20,3 brotos/explante (Rech Filho et al., 2003). Em *Wittrockia superba* o nível de 6 μM de PBZ resultou em uma taxa de regeneração de 13,4 brotos/explante (Lischka et al., 2003).

O último passo na micropropagação é a aclimatização. Segundo Grattapaglia & Machado (1998), aclimatizar consiste em retirar a plântula da condição *in vitro* e transferi-la para casa-de-vegetação, com o objetivo de superar as dificuldades que as plântulas obtidas por cultura de tecidos enfrentam quando são removidas dos tubos de ensaio. Esse processo é crítico, pois a plântula passa de um ambiente de baixa transpiração para outro que exige maior incremento, podendo ocorrer estresse hídrico, passando do estado heterotrófico para o autotrófico; a disponibilidade de sais é diferente e, finalmente, a planta sai de um estado asséptico para ficar sujeita ao ataque de microrganismos saprófitos e, eventualmente, patogênicos.

Entre os fatores que influenciam a aclimatização de plantas ornamentais, destaca-se o substrato, por sua atuação na qualidade do produto final e nos custos de produção (Grolli, 1991 citado por Maciel et al., 2000). Outro ponto importante é a manutenção da umidade alta e das temperaturas amenas (Maciel et al., 2000).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKI, A.; PEROSA, M. Y. Aspectos da produção e consumo de flores e plantas ornamentais no Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 8, n. 1/2, p. 13-23, 2002.
- ALMEIDA, E. F. A. **Conservação pós-colheita de copo-de-leite**, 2005. 100 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- ALMEIDA, E. F. A.; PAIVA, P. D. O. Cultivo de copo-de-leite. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 227, p. 30-35, 2005.
- ALMEIDA, E. F. A.; PAIVA, P. D. O. **Floricultura 2** – cultivo de copo-de-leite. Lavras: Editora UFLA, 2004. 28 p. (Texto Acadêmico).
- ALVES, G. M.; GUERRA, M. P. Regeneração *in vitro* de espécies de bromélias da Floresta Atlântica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 5., 1995, Lavras. **Anais...** Lavras, MG, 1995. p. 182.
- BLOOMZ. Bloomz on line, New Zealand, 2002. Disponível em: <http://www.bloomz.co.nz/crops_zant_lifecycle.html>. Acesso em: jan. 2007.
- BLOOMZ. Bloomz on line, New Zealand, 1997. Disponível em: <<http://www.bloomz.co.nz.html>> Acesso em: jan. 2007.
- BRICKELL, C.; ZUK, J.; ZUK, J. D. (Ed). **A – Z encyclopedia of garden plants**. Alexandria: American Horticultural Society, 1996. 576 p.
- BROOKING, I. R.; COHEN, D. Gibberellin-induced flowering in small tubers of *Zantedeschia* “Black Magic”. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 95, n. 1/2, p. 63-73, Aug. 2002.
- CANÇADO JÚNIOR, F. L.; PAIVA, B. M.; ESTANISLAU, M. L. L. Perspectivas para exportação de flores e plantas ornamentais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 227, p. 96-102, 2005.
- CASTRO, C. E. F.; ANGELIS, B. L. D.; MOURA, L. P. P.; SILVEIRA, R. B. A.; ALMEIDA NETO, G.; SATO, N. T. **Manual de floricultura**. Campinas: Sociedade Brasileira de Floricultura e Plantas Ornamentais, 1992. 279 p.

CARVALHO, D. A. **Sistemática vegetal: Pteridófitas, Gimnospermas e Angiospermas**. Lavras: Editora UFLA, 2001. 170 p.

CHEBET, D. K.; OKENO, J. A.; MATHENGE, P. Biotechnological approaches to improve horticultural crop production. **Acta Horticulture**, Amsterdam, v. 625, p. 473-477, 2003.

CLARO, D. P.; SANTOS, A. C.; CLARO, P. B. O. Um diagnóstico do agregado da produção de flores do Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 7, n. 1, p. 9-15, 2001.

CLEMENS, J.; DENNIS, D. J.; BUTLER, R. C.; THOMAS, M. B.; INGLE, A.; WELSH, T. E. Mineral nutrition of *Zantedeschia* plants affects plant survival, tuber yield, and flowering upon replanting. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Ashford, v. 73, n. 6, p. 755-762, Dec. 1998.

FORSBERG, J. L. **Diseases of ornamental plants**. Urbana: University of Illinois, 1976. 220 p.

FUNNELL, K. A. The Genus *Zantedeschia*. In: NEW ZEALAND CALLA COUNCIL GROWERS HANDBOOK, 1994, New Zealand: New Zealand Calla Council In, 1994. p.111-114.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. London: The technology Exegetics, 1993. 574 p.

GRACIA-GARZA, J. A.; BLOM, T. J.; BROWN, W.; ROBERTS, D. P.; SCHNEIDER, K.; FREISEN, M.; GOMBERT, D. Increased Incidence of *Erwinia* Soft-rot on Calla Lilies in the Presence of Phosphorous. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 110, n. 3, p. 293-298, 2004.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA – CNPH, 1998. p. 183-260.

HAN, B. H.; JOUNG, H. Y.; KO, J. Y. *In vitro* propagation of *Ficus benjamina* by shoot tip culture. **Journal of the Korean Society for Horticultural Science**, Sewon, v. 38, n. 3, p. 315-319, 1997.

HERTOGH, A. D. Bulbous and tuberous plants. In: LARSON, R. A. **Introduction to floriculture**. 2. ed. San Diego: Academic Press, 1992. p. 195-221.

<http://pt.wikipedia.org/wiki/Araceae> - acesso em outubro/2006.

<http://sbrt.ibict.br/upload/sbrt1310-3.html> - acesso em outubro/2006.

HUANG, C. H.; HU, W. C.; YANG, T. C.; CHANG, Y. C. Zantedeschia mild mosaic virus, a new widespread virus in calla lily, detected by ELISA, dot-blot hybridization and IC-RT-PCR. **Plant Pathology**, Oxford, n. 1, p. 1-7, Feb. 2006.

IMENES, S. D. L.; BERGMANN, E. C. Insetos sugadores e seu controle. In:___; ALEXANDRE, M. A. V. **Pragas e doenças em plantas ornamentais**. São Paulo: Instituto Biológico, 2001. CD-ROM.

JAIN, S. M. Feeding the World with induced mutations and biotechnology. **Proceedings International Nuclear Conference 2002** – Global trends and Perspectives. Seminar 1: Agriculture and Bioscience. MINT, Bangi, Malaysia: 2002. p. 1-14.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. **Características estruturais e tendências nos mercados interno e externo para as flores e plantas ornamentais do Brasil**. Hórtica Consultoria e Treinamento, 2003.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Carta de Brasília para o desenvolvimento da cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais do Brasil. In: CONGRESSO FIAFLORA EXPOGARDEN DE FLORICULURA, Brasília, 2005. **Plenária**.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. **Análise conjuntural das exportações brasileiras de flores e plantas ornamentais relativa ao primeiro semestre de 2006**. Hórtica Consultoria e Treinamento, 2006.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 2.

KRITZINGER, E. M.; VUUREN, R. J. V.; WOODWARD, B.; RONG, I. H.; SPREETH, M. H.; SLABBERT, M. M. Elimination of external and internal contaminants in rhizomes of *Zantedeschia aethiopica* with commercial fungicides and antibiotics. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 52, n. 1/2, p. 61-65, 1998.

KWON, S. B.; HA, J. H.; YOON, J. Y.; RYU, K. H. Zantedeschia mosaic virus causing leaf mosaic symptom in calla lily is a new potyvirus. **Archives of Virology**, Vienna, v. 147, n. 12, p. 2281–2289, Dec. 2002.

LANDGRAF, P. R. C. **Diagnóstico da floricultura no Estado de Minas Gerais**. 2006. 110 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

LANDGRAF, P. R. C.; PAIVA, P. D. O. Produção e comercialização de flores em Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 227, p. 7-11, 2005.

LETTY, C. The genus *Zantedeschia*. **Bothalia**, Pretoria, v. 11, n. 1/2, p. 5-26, 1973.

LISCHKA, R. W.; DAL VESCO, L. L.; RECH FILHO, A.; MULLER, C. V.; RIBEIRO, R. J.; GUERRA, M. P. Micropropagação de Bromélias em Sistema Biofábrica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 1., 2003, Lavras, MG. **Anais...** Lavras, MG: UFLA, 2003. p. 211.

LISCHKA, R. W. **Biotecnologias aplicadas à cadeia produtiva do copo de leite (*Zantedeschia* sp.), com ênfase à aclimatização de mudas micropropagadas**: Relatório de Estágio de Conclusão do Curso de Agronomia. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2005. 44 p.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas Ornamentais no Brasil**: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 3. Ed. Nova Odessa-SP: Instituto Plantarum, 2001. 1088 p.

MACIEL, A. L. R.; SILVA, A. B.; PASQUAL, M. Aclimação de plantas de violeta (*Saintpaulia ionantha* Wendl) obtidas *in vitro*: efeitos do substrato. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 1, p. 9-12, jan./jun. 2000.

MINAS GERAIS. **Ata de instalação da câmara técnica de floricultura do CEPA/SEAPA**. Belo Horizonte, 2005.

MARQUES, R. W.; CAIXETA FILHO, J. V. Avaliação da sazonalidade do mercado de flores e plantas ornamentais no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 9, n. 2, p. 143-160, 2003.

MERCIER, H.; KERBAUY, G. B. Micropropagation of Ornamental Bromeliads (Bromeliaceae). In: BAJAJ, Y. P. S. (Ed.) **Biotechnology in Agriculture and Forestry**. Berlin: Springer-Verlag, 1997. v. 40, p. 43-57.

MUÇOUÇAH, F. J. **Indução floral do copo-de-leite colorido (*Zantedeschia* sp) com ácido giberélico (GA₃) aplicado via irrigação, foliar e imersão, nas condições de Botucatu/SP**. 2002. 76 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, SP.

NOWAK, J.; RUDNICKI, R. M. **Postharvest handling and storage of cut flowers**: florist greens and potted plants. Portland: Timber Press, 1990. 210 p.

PITTA, G. P. B.; CARDOSO, E. J. B. N.; CARDOSO, R. M. G. **Doenças de plantas ornamentais**. São Paulo: Instituto Brasileiro do Livro Científico, 1990. 185p.

RAJAGOPALAN, C. Export potential of Indian floriculture and need of policy environment. **Floriculture Today**, Bangalore, v. 9, n. 1, p. 29-33, 2000.

RECH FILHO, A.; LISCHKA, R. W.; DAL VESCO, L. L.; MÜLLER, C. V.; ALVES, G. M.; CUNHA, L.; GUERRA, M. P. Efeitos do Paclobutrazol na Morfogênese *in vitro* de *Vriesea gigantea*. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 15, p. 154, 2003. Suplemento. (CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 2003, Atibaia-SP).

RIVAS, E. B. Viroses de plantas ornamentais e medidas de controle. In: REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO PLANTAS ORNAMENTAIS, 14., 2006, Pariquera-Açú. **Anais...** Pariquera-Açú, SP, 2006. p. 21-26.

SALGADO, S. L.; CUNHA, R. L. K.; NIELLA, R. G.; TEIXEIRA, H.; PASQUAL, M. Efeito da utilização de TDZ e Benomyl na micropropagação do crisântemo (*Dendranthema morifolium*), Ciência e Tecnologia, **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 2, p. 274-280, jan./abr. 2001.

SALINGER, J. P. **Producción comercial de flores**. Zaragoza: Acribia, 1991, 371 p.

SCHENKEL, E. P.; ZANNIN, M.; BORDIGNON, S. A. L.; IRGANG, B. Plantas tóxicas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.;

MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2003. cap. 37.

SCHIVA, T. Strategies for development of commercial floriculture in Asia and the Pacific. In: REPORT OF THE APO SEMINAR, 2., 2000, New Delhi, India. 2000. p. 27-38.

SILVEIRA, R. B. A. Floricultura no Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. Capinas: SBFPO, 1993. Disponível em: <<http://www.uesb.br/flower/florbrasil.html#regiao>>. Acesso em: jan. 2007.

STANCATO, G. C.; CHAGAS, E. P.; MAZZAFERA, P. Development and germination of seeds of *Laelia purpurata* (Orchidaceae). **Lindleyana**, West Palm Beach, v. 13, n. 2, p. 97-100, 1998.

VILLALOBOS, V. M.; THORPE, T. A. Micropropagación: conceptos, metodología y resultados. In: ROCA, W. M.; MROGINSKI, L. A. (Ed.). **Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones**. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colômbia, 1991. 970 p.

Wikipédia, a Enciclopédia Livre. Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Plantas_Ornamentais>. Acesso em: out. 2006.

CAPÍTULO II

MULTIPLICAÇÃO *in vitro* DE COPO-DE-LEITE (*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.): SULFATO DE ADENINA E 6- BENZILAMINOPURINA

1 RESUMO

RIBEIRO, Márcia de Nazaré Oliveira. **Multiplicação *in vitro* de copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.): sulfato de adenina e 6-benzilaminopurina.** 2007. 83 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

O copo-de-leite é bastante apreciado, tanto como flor de corte quanto na composição de jardins. Entretanto, muitos patógenos afetam essa cultura. Assim, a cultura de tecidos, além de permitir rápida propagação clonal, proporciona a obtenção de plantas uniformes e saudáveis. A produção em larga escala é possível pela micropropagação, uma vez que, pelo método tradicional de propagação, somente algumas unidades de novas mudas podem ser obtidas anualmente. No processo de cultivo *in vitro*, o tipo e a concentração de reguladores de crescimento podem afetar o crescimento dos explantes. Objetivou-se estudar a influência de diferentes concentrações de BAP e sulfato de adenina (SA) sobre o desenvolvimento *in vitro* de plântulas de copo-de-leite. As plântulas foram cultivadas em meio MS acrescido de BAP (0; 2; 4 e 6 mg.L⁻¹) e SA (0; 20; 40 e 60 mg.L⁻¹), em todas as combinações possíveis. Posteriormente à inoculação, os explantes foram transferidos para sala de crescimento a 27 ± 1°C, com fotoperíodo de 16 horas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições de três tubos cada, cada tubo contendo uma plântula. A interação significativa entre os fatores BAP e SA ocorreu para número de folhas (4,8) e massa fresca da parte aérea (0,73 g), com 6 mg.L⁻¹ de BAP e 40 mg.L⁻¹ de SA. Para número de brotos (3,0), apenas o BAP ocasionou significância, na concentração de 5 mg.L⁻¹. Observou-se maior comprimento de brotos (5,0 cm) na ausência de BAP.

* Orientador: Moacir Pasqual – UFLA.

2 ABSTRACT

RIBEIRO, Márcia de Nazaré Oliveira. **Calla lily (*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.) *in vitro* multiplication: adenine sulphate and 6-benzilaminopurine.** 2007. 83 p. Dissertation (Master in Agronomy/Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil*.

Calla lily is appreciated as cut flower and in composition of gardens. However, many pathogens affect this species. Thus, tissue culture besides allowing fast clonal propagation also provides healthy and uniform plants. The production in wide scale is possible by micropropagation, once, by the traditional method of propagation, some units of new seedlings can only be produced annually. In the cultivation process *in vitro*, the type and the concentration of growth regulators could affect the growth of seedlings. The aim was to study the influence of the different concentrations of BAP and adenine sulphate (AS) on *in vitro* development of Calla lily seedlings. The seedlings were maintained in MS medium added with BAP (0; 2; 4 and 6 mg.L⁻¹) and AS (0; 20; 40 and 60 mg.L⁻¹), in the possible combinations. After inoculation, the tubes were transferred to growth room and kept at 27±1°C with photoperiod of 16 hours. The experimental design was entirely randomized with four repetitions of three seedlings each, resulting in twelve plants per treatment, each tube with one seedling. There was a significant interaction between BAP and AS for number of leaves (4,8) and fresh weight of the aerial part (0,73 g), with 6 mg.L⁻¹ of BAP and 40 mg.L⁻¹ of AS. For the numbers of sprouting (3,0), only BAP showed significant results in the concentration of 5 mg.L⁻¹. There was higher length of sprouting (5,0 cm) in the absence of BAP.

* Adviser: Moacir Pasqual – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

O gênero *Zantedeschia*, conhecido popularmente como ‘rum, calla lily ou lírio do nilo, é nativo da África. Além da *Zantedeschia aethiopica* com flores brancas, existem seis outras espécies, com flores coloridas, cujos tons variam entre rosa, creme, amarelo, laranja e marrom (Chang et al., 2003; Funnell, 1993). Essa espécie pertence à família *Araceae* e é considerada símbolo de pureza, sendo apreciada tanto para corte quanto para a composição de jardins, sendo suas flores e folhagens muito utilizadas em arranjos florais (Almeida & Paiva, 2004).

Uma das peculiaridades da cultura de tecidos vegetais é a possibilidade quase absoluta de controle do crescimento e do desenvolvimento das plantas, pois os reguladores de crescimento direcionam o metabolismo do explante *in vitro* para o processo desejado. Todas as plantas possuem, naturalmente, em sua composição, algumas substâncias químicas, cuja função é a de regular os processos metabólicos envolvidos no crescimento e no desenvolvimento, em vez de possuírem função nutricional (Pasqual, 2001).

Segundo Grattapaglia & Machado (1998), as citocininas são indispensáveis para a quebra de dominância apical e indução de proliferação de gemas axilares. O tipo de citocinina e a sua concentração são os fatores que mais influenciam o sucesso da multiplicação *in vitro*. O 6-benzilaminopurina ou BAP, tem sido muito eficaz para promover multiplicação em diversas espécies e parece ser a citocinina por excelência para a multiplicação de partes aéreas e indução de gemas adventícias, além de ser a mais barata de todas. Porém, seu excesso é tóxico e caracteriza-se, principalmente, por falta de alongamento das culturas, redução no tamanho das folhas, encurtamento dos entrenós, engrossamento exagerado dos caules e vitrificação generalizada, o que leva a

sérios problemas na fase de enraizamento. Mayer et al. (1997) utilizaram 1 mg.L⁻¹ de BAP, o que proporcionou boa multiplicação de brotos em cultivares de amora-preta.

Guerra & Nodari (2006) relataram que a adenina, ou sulfato de adenina (SA), estimula o crescimento de brotações *in vitro*. É muito utilizada em cultura de tecidos e seu efeito pode ser comparado ao de uma citocinina fraca ou, ainda, haver uma interação com as próprias citocininas do meio (Caldas et al., 1998). De acordo com Mantes & Tepper (1983) e Menegucci et al. (1993), a utilização de sulfato de adenina no meio de cultura também contribui para um aumento na taxa de multiplicação *in vitro* de bananeira. George & Sherrington (1984) verificaram que o sulfato de adenina estimula a proliferação de brotos, principalmente em combinação com citocininas.

Efeitos estimulatórios da adenina foram observados na formação de gemas em explantes de câmbio de *Ulmus campestris* (Jacquiot, 1951), no enraizamento de embriões somáticos de *Citrus sinensis* (Kochba et al., 1974) e na formação de gemas em segmentos de caule de *Plumbago indiga* (Nitsch et al., 1967). No último caso, houve sinergismo entre adenina e citocinina. A adenina é inibitória ao crescimento, em algumas circunstâncias, como dos calos normais e tumorosos de *Picea glauca* (Reinert & White, 1956).

Este trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito do BAP e do sulfato de adenina na multiplicação *in vitro* de copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.), procurando definir concentrações adequadas e verificar a eficiência desses reguladores de crescimento.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, localizado no Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Material vegetal

Plântulas de copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.) foram obtidas a partir do estabelecimento *in vitro* de gemas em meio contendo os sais do meio MS (Murashige & Skoog, 1962), acrescido de 30 g.L⁻¹ de sacarose e com pH ajustado para 5,8. Os cultivos foram mantidos em sala de crescimento, por 60 dias, com lâmpadas brancas frias proporcionando 35 μmol m⁻² s⁻¹, com 16 horas de fotoperíodo, a 27 ± 1°C.

Descrição dos tratamentos

Os tratamentos foram constituídos de diferentes concentrações de BAP (0; 2; 4 e 6 mg.L⁻¹) e sulfato de adenina (0; 20; 40 e 60 mg.L⁻¹), em todas as combinações possíveis. O meio foi acrescido de 30 g.L⁻¹ de sacarose e solidificado com 5,5 g.L⁻¹ de ágar e o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, a 121°C e 1 atm, por 20 minutos. Posteriormente à inoculação, os tubos foram transferidos para sala de crescimento, a 27 ± 1°C, irradiância de 35 μmol m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas.

Avaliações

Após 60 dias de cultivo, foram realizadas avaliações nos seguintes parâmetros: número e comprimento de brotos, número de folhas e massa fresca da parte aérea.

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC), constando de quatro repetições de três tubos cada, totalizando doze tubos por tratamento em esquema fatorial 4x4. Os resultados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o software Sisvar (Ferreira, 2000), com regressão polinomial para concentrações de BAP e sulfato de adenina.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância mostrou interação significativa, entre os fatores BAP e SA, para número de folhas (NF) e massa fresca da parte aérea (MFPA). O BAP foi significativo para número de folhas (NF), número de brotos (NB), comprimento dos brotos (CB) e massa fresca da parte aérea (MFPA). O SA foi eficiente para número de folhas (NF) e massa fresca da parte aérea (MFPA) (Anexo).

Maior número de brotos por explante (3,0) foi obtido com 5 mg.L⁻¹ de BAP (Figura 1). Resultados semelhantes são obtidos pela empresa ProClone, na qual, na fase de multiplicação de *Zantedeschia* sp., o BAP produz, em média, 1: 2 brotos/explante (Lischka, 2005). Paiva et al. (1999), trabalhando com abacaxi (*Ananas comosus* L. Merr.), mostraram que 1 mg.L⁻¹ de BAP proporcionou 4,40 brotos/explante, em meio MS na cultivar Skay, sendo o SA ineficiente na proliferação de brotos nas cultivares testadas. Mayer et al. (1997), estudando o efeito de reguladores de crescimento e SA na propagação *in vitro* de amora-preta (*Rubus* sp), observaram, na presença de BAP, melhores resultados para número de brotos na cultivar Cherokee. O SA ocasionou explantes amarelo-esbranquiçados, tendo alguns secado totalmente.

Oliveira (1994), trabalhando com crisântemo cultivar Orange Reagen, observou que a produção de brotos foi superior a 3/explante, somente quando se utilizou acima de $1,4 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP na ausência de ANA. Já para crisântemo cultivar White Polaris, Chagas et al. (2004) obtiveram maior número de brotos (2,45) com a utilização de $1,4 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP associado a $0,014 \text{ mg.L}^{-1}$ de ANA. Malaure et al. (1991), estudando diversas variedades de crisântemo, observaram que estas produziram bom número de brotos nas concentrações entre 0,5 e $10,4 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP combinadas com 0,5 a 4 mg.L^{-1} de ANA. Koech et al. (2005) observaram que 2 mg.L^{-1} de BAP induziram maior número de brotos/explante (2,5) e maior comprimento de brotos (3,7) em explantes de *Zantedeschia albomaculata*, após 4 semanas de cultivo em meio MS. Outras citocininas são usadas na micropropagação de *Zantedeschia*, tais como BA (6-Benzyladenine) e TDZ (Thidiazuron). Esses reguladores desenvolveram uma média de 3,8 e 3,2 brotos/explante, respectivamente (Chang et al., 2003). Ruiz-Sifre et al. (1996) utilizaram 3 mg.L^{-1} de BA, para maximizar a multiplicação de brotos em *Zantedeschia aethiopica*.

Resultados contrários a esta pesquisa, relatando efeitos benéficos do SA, na proliferação de brotos, foram encontrados por Start & Cumming (1976), que obtiveram máxima indução de brotos, em violeta-africana (*Saintpaulia ionatha*), em meio MS acrescido de $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ de ANA associado a 5 mg.L^{-1} de BA e 125 mg.L^{-1} de SA. Em trabalhos de Moraes et al. (2005), melhores resultados *in vitro* para *Nidularium fulgens* foram na presença de SA e 2 mg.L^{-1} de glicina. Para *Mussaenda erythrophylla* 'Rosea', o efeito do SA, foi observado no desenvolvimento dos brotos e na qualidade dos calos, porém, quando utilizaram-se 120 mg.L^{-1} de SA, houve 100 % de folhas queimadas (Lucena & Serpa, 1992). Na micropropagação de bananeira (*Musa* sp. AAB), os meios que receberam SA e tirosina tiveram maior número médio de brotos produzidos, tanto na presença de BAP ou de TDZ, mostrando aumento na multiplicação de

brotos (Menegucci et al., 1993). Esse resultado está de acordo com Mantes & Tepper (1983), citando o efeito positivo do SA na taxa de multiplicação e produção de brotos. A adição de 5 mg.L⁻¹ de SA no meio de cultura aumentou o crescimento de brotos em *Psoralea corylifolia* Linn (Saxena, 1997). A presença de SA no meio de cultura aumentou a propagação de *Leontopodium alpinum*, produzindo 80 plântulas/explante, mas inibiu o desenvolvimento de raízes quando adicionaram-se auxinas (Zapartan, 1996).

Em trabalhos anteriores, com outras plantas, encontrou-se que a adenina tem ação sinérgica com cinetina e zeatina, no aumento da formação de brotos (Nitsch et al., 1967; Skoog & Miller, 1965). A adição de sulfato de adenina, em meio contendo BA, também aumentou a iniciação dos brotos e o vigor de *Saintpaulia ionantha* cultivadas *in vitro*, contudo, em meio somente com sulfato de adenina, a formação de brotos foi demorada e precedida pela formação de raízes (Start & Cumming, 1976). Segundo Chiariotti & Antonelli (1988), 5 mg.L⁻¹ de BAP induziram vitrificação e o efeito de SA foi imprevisível, causando respostas contraditórias em genótipos de pêssego. Decetti (2000) verificou ser possível a indução de brotações a partir de segmentos nodais de *Annona glabra* sem a utilização de citocinina exógena, obtendo um número máximo de 1,5 broto/explante. Lemos & Black (1996) também observaram ser desnecessário a adição de citocininas ao meio de cultura para induzir brotações em hipocótilos de *Annona squamosa*.

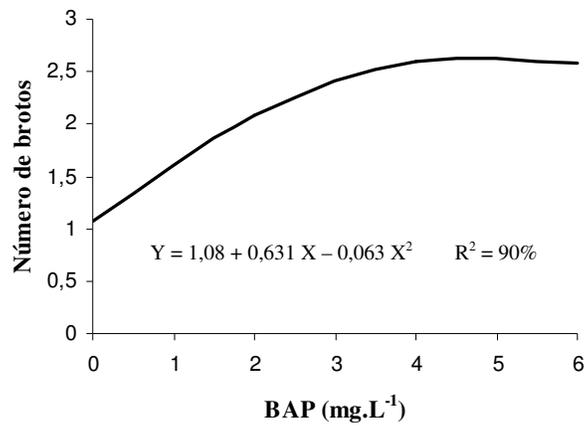


FIGURA 1. Número de brotos/explante de copo-de-leite sob diferentes concentrações de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Para comprimento de brotos (Figura 2), melhores resultados foram obtidos na ausência de BAP. Com o aumento das concentrações de BAP houve diminuição no comprimento dos brotos. Resultados semelhantes foram encontrados por Paiva et al. (1997) e Silva (2001), trabalhado com gloxínia. Esses autores observaram redução no comprimento dos brotos com o aumento das concentrações de BAP e outros autores têm observado os mesmos resultados negativos deste regulador de crescimento no alongamento das brotações, em espécies como crisântemo e morango (Oliveira, 1994; Pasqual et al., 1998). Para amoreira-preta cultivar Xavante, melhores resultados para comprimento médio das brotações foram obtidos em meio MS sem citocininas (Leitzke, 2005). Rogalski et al. (1999), na multiplicação *in vitro* de ameixeira, observaram que a presença de BAP no meio ocasiona alta taxa de multiplicação, formando grande número de brotos por explante, porém com pequeno comprimento médio dos brotos. Da mesma forma, Dustan et al. (1992) afirmam que a adição de BAP ao meio nem sempre proporciona alongamento adequado. A presença de BAP ao

meio ocasionou pequeno comprimento médio dos brotos em prunáceas (Leontiev-Orlov et al., 2000). Vários autores afirmaram que o BAP não é responsável pelo alongamento de brotos (Earle & Langhans, 1974; Paiva et al., 1997; Taiz & Zeiger, 1991).

Resultados satisfatórios da adição de SA ao meio de cultura, melhorando a multiplicação em algumas espécies, são relatados por autores como Schmildt (2006), que recomenda a utilização de 30 mg.L⁻¹ de SA no meio de multiplicação para mamoeiro (*Carica papaya* L.). O SA, nessa cultura, ocasionou melhor qualidade e homogeneidade das partes aéreas produzidas, ramos alongados e pecíolos longos, ocasionando, assim, bom padrão para posterior enraizamento. Start & Cumming (1976) observaram que o melhor meio para a multiplicação de violeta-africana (*Saintpaulia ionantha*) foi o MS adicionado de 5,4 µM de ANA, 22 µM de BA e 308 µM de SA; esses reguladores ocasionaram a produção de brotos uniformes, com folhas cujos tamanhos variaram entre 3 e 8 mm.

Samartin et al. (1984) observaram, em *Camellia japonica*, que a adição da citocinina BA no meio de cultivo, em concentrações de 2 mg.L⁻¹, aumentou o número de brotos e diminuiu o comprimento dos mesmos; na dosagem de 1 mg.L⁻¹, os autores constataram que os brotos cresceram entre 2 e 3 cm.

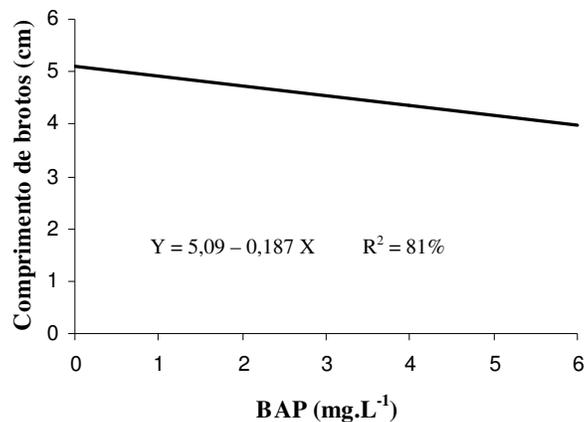


FIGURA 2. Comprimento dos brotos de copo-de-leite em diferentes concentrações de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2007.

O número de folhas foi influenciado pela interação BAP e SA, e maior número de folhas (4,8) foi observado com o emprego de 6 mg.L⁻¹ de BAP e 40 mg.L⁻¹ de SA (Figura 3). Resultados semelhantes foram observados em amoreira-preta (*Rubus* spp.), cultivar Xavante, quando utilizaram-se 15 μM de BAP (Leitzke, 2005). O número de folhas de amoreira-preta cultivar Ébano foi estimulado pelo aumento da concentração de BAP, e maior número de folhas (7,89) foi observado no meio MS, com 1 mg.L⁻¹ de BAP (Villa et al., 2005).

Resultados contraditórios obtiveram Silva (2001) e Oliveira (1994), que verificaram queda no número de folhas com o aumento das dosagens de BAP, em gloxínia e crisântemo, respectivamente. Isso pode ser atribuído ao fato do BAP estimular a formação de maior número de brotos, porém, de tamanho reduzido e apresentar menores números de segmentos nodais e folhas.

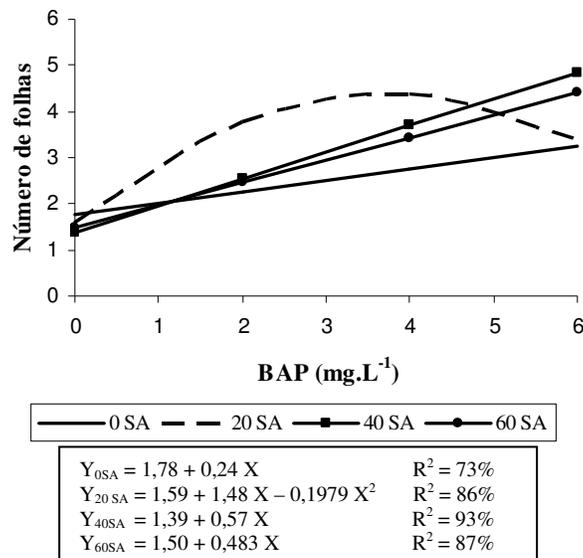


FIGURA 3. Número de folhas em plântulas de copo-de-leite, sob diferentes concentrações de BAP e SA. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Maior massa fresca da parte aérea (0,73 g) foi observada com 6 mg.L⁻¹ de BAP e 40 mg.L⁻¹ de SA (Figura 4). Fráguas (2003), multiplicando figueira *in vitro*, observou que o BAP foi significativo para esta espécie, porém, com o aumento das concentrações de BAP, houve decréscimo desta variável. Grattapaglia & Machado (1998) afirmam que o uso de citocininas estimula maior produção de partes aéreas, porém, o seu excesso é tóxico.

Esses resultados são contraditórios aos de Silva (2001), que observou maior massa fresca de gloxínia na ausência de BAP. A diminuição na massa fresca devido ao aumento das concentrações de BAP, possivelmente, ocorreu pelo fato desse regulador promover maior número de brotações, porém, de menor tamanho.

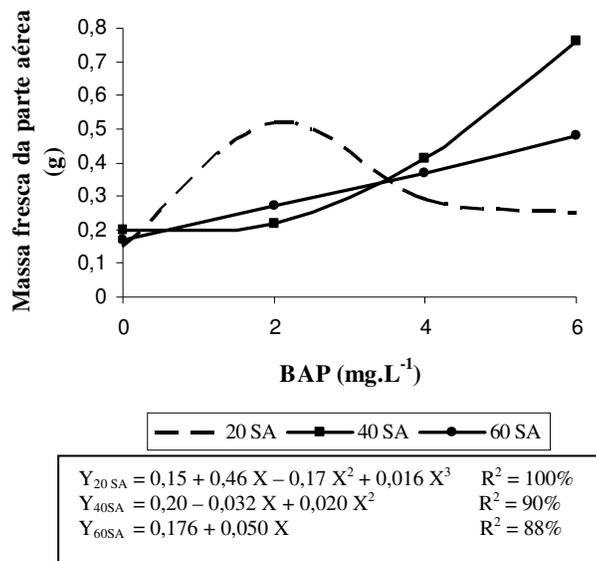


FIGURA 4. Massa fresca da parte aérea de copo-de-leite, sob diferentes concentrações de BAP e SA, aos 60 dias de cultivo, em meio MS. UFLA, Lavras, MG, 2007.

6 CONCLUSÕES

A utilização de 5 mg.L⁻¹ de BAP promove maior número de brotos (3,0) em copo-de-leite.

Maiores número de folhas (4,8) e massa fresca da parte aérea (0,73 g) são observados com 6 mg.L⁻¹ de BAP e 40 mg.L⁻¹ de SA.

A ausência de BAP promove maior comprimento dos brotos (5,0 cm).

O sulfato de adenina é ineficiente para a multiplicação *in vitro* desta espécie.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, E. F. A.; PAIVA P. D. O. **Floricultura 2: cultivo de copo-de-leite**. Lavras: Editora UFLA, 2004. 28 p. (Texto Acadêmico).
- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: EMBRAPA/CNPQ, 1998. p. 87-132.
- CHAGAS, E. A.; FRÁGUAS, C. B.; SILVA, E. F.; PASQUAL, M.; MENDONÇA, V. Multiplicação *in vitro* de crisântemo cv. White Polaris. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 1, p. 123-126, jan./mar. 2004.
- CHANG, H. S.; CHAKRABARTY, D.; HAHN, E. J.; PAEK, K. Y. Micropropagation of Calla lily (*Zantedeschia albomaculata*) via *in vitro* shoot tip proliferation. **In vitro cellular & developmental biology-Plant**, Wallingford, v. 39, n. 2, p. 129-134, Mar./Apr. 2003.
- CHIARIOTTI, A.; ANTONELLI, M. The effect of 6-BAP and adenine sulphate on peach shoot proliferation. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, n. 227, p. 418-420, 1988.
- DECCETTI, S. F. C. **Propagação *in vitro* de *Annona glabra* L.** 2000. 101 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- DUSTAN, D. I.; LASHTA, D. P.; KIKCIO, S. I.; THORPE, T.A. Factors affecting recurrent shoot multiplication *in vitro* cultures of 17 to 20 years-old douglas fir trees. **In vitro Cell Development Biology**, Wallingford, v. 28, n. 1, p. 33-38, Jan. 1992.
- EARLE, E. D.; LANGHANS, R. W. Propagation of *Crysanthemum in vitro*: II. production, growth and flowering of plantlets from tissue culture. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 99, n. 4, p. 352-358, July 1974.
- FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE

INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FRÁGUAS, C. B. **Micropropagação e aspectos da anatomia foliar da figueira 'Roxo de Valinhos' em diferentes ambientes.** 2003. 110 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

FUNNELL, K. *Zantedeschia*. In: DE HERTOOGH, A.; LE NARD, M. (Ed.). **The physiology of flower bulbs.** Amsterdam: Elsevier, 1993.

GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. **Plant propagation by tissue culture.** Eversley: Exegetics limites, 1984. 593 p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. L.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. S. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPH, 1998. v. 1, p. 183-260.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. **Apostila de biotecnologia.** Florianópolis: CCA/UFSC, 2006. 41 p.

JACQUIOT, C. Action du méso-inositol et de l'adénine sur la formation de bourgeons par le tissu cambial d'*Ulmus campestris* cultivé *in vitro*. **Comptes Rendus Academie des Sciences**, Paris, v. 233, p. 815-817, 1951.

KOCHBA, J.; BUTTON, J.; SPIEGEL-ROY, P.; BORNMAN, C. H.; KOCHBA, M. Stimulation of rooting of *Citrus* embryoids by gibberellic acid and adenine sulphate. **Annals of Botany**, London, v. 38, n. 157, p. 795-802, 1974.

KOECH, A. A.; ISUTSA, D. K.; WU, Q. Explants, hormones and sucrose influence in vitro shoot regeneration and rooting of calla lily (*Zantedeschia albomaculata* L. Spreng.) 'Black Magic'. **Journal of Agriculture, Science and Technology**, Nairobi, v. 7, n. 1, p. 53-66, 2005.

LEITZKE, L. N.; SOUZA, J. A.; FERRI, J.; SCHUCH, M. W. Micropropagação *in vitro* de amoreira-preta cv. Xavante. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 14., 2005, Pelotas. **Anais...** Pelotas: FAEM, 2005.

LEMOS, E. E. P.; BLACK, J. Micropropagation of juvenile and adult *Annona squamosa* L. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 71, n. 3, p. 395-403, May 1996.

LEONTIEV-ORLOV, O.; ROGALSKI, M.; MOSSI, A. J.; CANSIAN, R. L. 6-Benzilaminopurina (BAP) na multiplicação *in vitro* de prunáceas (*Prunus* sp.). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 6 n. 1, p. 42-46, jan./abr. 2000.

LISCHKA, R. W. **Biotecnologias aplicadas à cadeia produtiva do copo de leite (*Zantedeschia* sp.), com ênfase à aclimatização de mudas micropropagadas**: Relatório de Estágio de Conclusão do Curso de Agronomia. Florianópolis: Universidade Federal De Santa Catarina, 2005. 44 p.

LUCENA, N. M.; SERPA, M. G. Propagacion de *Mussaenda erythrophylla* Schum y Thonn, 'Rosea' mediante cultivo *in vitro*. **Agronomía Tropical**, Venezuela, v. 42, n. 3/4, p. 261-283, 1992.

MALAURE, R. S.; BARCLAY, G.; POWER, J. B.; DAVEY, M. R. The production of novel plants from florets of *Crhysanthemum morifolium* using tissue culture. 1. Shoot regeneration from ray florets and somaclonal variation exhibited by regenerated plants. **Journal of Plant Physiology**, London, v. 139, n. 1, p. 8-13, Nov. 1991.

MANTES, S.; TEPPER, H. B. Propagation of *Musa textilis* Neé plants from apical meristem slices *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 2, n. 2, p. 151-159, 1983.

MAYER, M. D. B.; PASQUAL, M.; PAIVA, P. D. O.; MOREIRA, M. A. Efeito de diferentes reguladores de crescimento e sulfato de adenina na propagação *in vitro* de amora-preta (*Rubus* sp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 19, n. 3, p. 381-385, 1997.

MENEGUCCI, J. L. P.; PINTO, J. E. B. P.; SILVA, C. R. de R. Avaliação de um novo regulador de crescimento na micropropagação de cultivares de bananeira (*Musa* sp. AAB). **Ciência e Prática**. Lavras, v. 7, n. 4, p. 318-321, out./dez. 1993.

MORAES, D. N.; PAIVA, P. D. O.; CARNEIRO, L. F.; RODRIGUES, F. A.; FERREIRA, A. L. Efeito de sulfato de adenina e glicina no cultivo *in vitro* de *Nidularium fulgens*. In: FÓRUM LATINOAMERICANO DE PLANTAS ORNAMENTAIS, 3., 2005, Nova Petrópolis. **Anais...** Nova Petrópolis: AFLORI, 2005. p. 74-75.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, Mar. 1962.

NITSCH, J. P.; NITSCH, C.; ROSSINI, L. M. E.; HA, B. D. D. The role of adenine in bud differentiation. **Phytomorphology**, New Delhi, v. 17, n. 1/4, p. 446-453, 1967.

OLIVEIRA, P. D. **Propagação *in vitro* de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzlev.) cv. Orange Reagen**. 1994. 116 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PAIVA, P. D. O. et al. Propagação *in vitro* de gloxínia. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 3, n. 2, p. 29-41, 1997.

PAIVA, P. D. O.; MAYER, M. D. B.; KAWAMURA, M. I.; PASQUAL, M.; PAIVA, R. Efeito de BAP, Thidiazuron e Sulfato de Adenina na propagação *in vitro* de abacaxi. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 46, n. 265, p. 231-237, maio/jun. 1999.

PASQUAL, M.; SILVA, A. B.; MACIEL, A. L. R.; PEREIRA, A. B.; ALVES, J. M. C. Efeito da cianimida hidrogenada e benzilaminopurina na proliferação *in vitro* de brotos de morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.) cv. Princesa Isabel. **Revista da Universidade de Alfenas**, Alfenas, v. 4, n. 2, p. 115-119, 1998.

PASQUAL, M. Reguladores de crescimento. In: PASQUAL, M. **Meios de Cultura**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001, v. 1, p. 23-49.

REINERT, J.; WHITE, P. R. The cultivation *in vitro* of tumor tissues and normal tissues of *Picea glauca*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 9, n. 2, p. 177-189, 1956.

ROGALSKI, M.; LEONTIEV-ORLOV, O.; MOSSI, J.A.; CANSIAN, R.L.; VENDRUSCULO, T. Influência de diferentes reguladores de crescimento na multiplicação *in vitro* de ameixeira (*Prunus domestica* L. – var. Kantimirovskaja). In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 45., 1999, Gramado, RS. **SUPPLEMENT Genetics and Molecular Biology – Programa e Resumos**. Gramado: SBG, 1999. p. 713.

RUIZ-SIFRE, G.; ROSA-MÁRQUES, E.; FLORES-ORTEGA, C. E. *Zantedeschia aethiopica* propagation by tissue culture. **Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, Rio Piedras, v. 80, n. 3, p. 193-194, 1996.

SAMARTIN, A.; VIEITEZ, A. M.; VIEITEZ, E. *In vitro* propagation of *Camellia japonica* seedlings. **HortScience**, Alexandria, v. 19, n. 2, p. 225-226, Apr. 1984.

SAXENA, C.; PALAI, S. K.; SAMANTARAY, S.; ROUT, G. R.; DAS P. Plant regeneration from callus cultures of *Psoralea corylifolia* Linn. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 22, n. 1, p. 13-17, June 1997.

SCHMILDT, O. **Multiplicação *in vitro* de mamoeiro ‘Tainung 01’**, 2006. 46 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES.

SILVA, A. B. **Multiplicação *in vitro* e aclimatização de gloxínia (*Sinningia speciosa* Lodd. Hiern.)**, 2001. 59 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SKOOG, F.; MILLER, C. O. Néoformação de fleurs *in vitro* chez espèce de jours courts: *Plumbago indica* L. **Annales de Physiologie Vegetale**, Paris, v. 7, p. 251-256, 1965

START, N. D.; CUMMING, B. G. *In vitro* propagation of *Saintpaulia ionantha* Wendl. **HotScience**, Alexandria, 1976, v. 11, n. 3, p. 204-206, June 1976.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Redwood City: The Benjamin Cummings, 1991. 559 p.

VILLA, F.; ARAÚJO, A. G.; PIO, L. A. S.; PASQUAL, M. Multiplicação *in vitro* da amoreira-preta ‘Ébano’ em diferentes concentrações de meio MS e BAP. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 582-589, maio/jun. 2005.

ZAPARTAN, M. Conservation of *Leontopodium alpinum* using *in vitro* techniques in România. **Botanic Gardens Micropropagation News**, Napoca, v. 2, Part 2, 1996.

CAPÍTULO III

MULTIPLICAÇÃO *in vitro* DE COPO-DE-LEITE (*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.): MEIO MS E SACAROSE

1 RESUMO

RIBEIRO, Márcia de Nazaré Oliveira. **Multiplicação *in vitro* de copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.): meio MS e sacarose.** 2007. 83 p. Dissertação (Mestrado em agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

O setor de produção de flores e plantas ornamentais é altamente competitivo, exigente em tecnologias avançadas e qualidade dos produtos. Essa qualidade pode ser obtida por meio da micropropagação. A redução na concentração de sais do meio MS melhora o desenvolvimento de algumas espécies e reduz custos. O objetivo deste trabalho foi determinar a concentração dos sais do meio MS e de sacarose que favoreça o melhor desenvolvimento *in vitro* de copo-de-leite. Explantes foram excisados e inoculados em concentrações de meio MS (0; 50; 100, 150 e 200%) e sacarose (0; 15; 30, 45 e 60 g.L⁻¹). O experimento foi inteiramente casualizado, utilizando-se quatro repetições. O pH do meio foi ajustado para 5,8, antes da adição de 5,5 g.L⁻¹ de ágar e da autoclavagem, a 121°C e 1 atm, por 20 minutos. Após a inoculação, os explantes foram mantidos, por 60 dias, em sala de crescimento, a 27±1°C, irradiância de 35 µmol m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas, avaliando-se número de brotos, folhas e raízes, comprimento dos brotos e das raízes, massa fresca da parte aérea e das raízes. Obtém-se maior número de brotos com 30 g.L⁻¹ de sacarose (3,5) e 125% de sais do meio MS (2,14), sem haver interação significativa entre os fatores sacarose e meio MS. Maior comprimento de brotos (3,4 cm) em 30 g.L⁻¹ de sacarose. Para as demais variáveis analisadas, número de folhas (4,13) e massa fresca da parte aérea (0,9 g), melhores resultados foram obtidos em meio MS 100% associado a 30 e 60 g.L⁻¹ de sacarose, respectivamente.

* Orientador: Moacir Pasqual – UFLA.

2 ABSTRACT

RIBEIRO, Márcia de Nazaré Oliveira. **Calla lily (*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.) *in vitro* multiplication: MS medium and sucrose.** 2007. 83 p. Dissertation (Master in Agronomy/Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil*.

The production of ornamental plants and flowers is a highly competitive sector, exigent in advanced technologies and products quality. These qualities can be obtained through micropropagation. The reduction of the concentration of salts MS medium, improve the development of some species and decrease costs. The aim of this work was to determine the salts of MS medium and sucrose concentrations to increase the efficiency of the *in vitro* multiplication of calla lily species. Explants were removed from the plant and inoculated in different concentrations of MS medium (0; 50; 100, 150 and 200%) and sucrose (0; 15; 30, 45 and 60 g.L⁻¹). The experimental design was entirely randomized with four repetitions. The medium pH was adjusted for 5.8 and solidified with 5.5 g.L⁻¹ of agar before sterilization at 121°C and 1 tam per 20 minutes. After inoculation, the tubes were transferred to growth room adjusted at 27±1°C, irradiance of 35 μmol m⁻² s⁻¹ and photoperiod of 16 hours. After 60 days, the length of the aerial part and roots, the number of sprouts, roots and leaves, fresh mass of the aerial part and roots of seedlings was evaluated. There was higher number of sprouting number with 30 g.L⁻¹ of sucrose (3,5) and 125% of salt in the MS medium (2,14), without significant interaction between sucrose and MS medium. Higher length of the sprouting (3.4 cm) in 30 g.L⁻¹ of sucrose. For the rest of the variables studied, number of leaves (4,13) and fresh weigh of the aerial part (0,9 g), the better results were obtained in MS medium 100% associated to 30 and 60 g.L⁻¹ of sucrose, respectively.

* Adviser: Moacir Pasqual – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

A floricultura abrange o cultivo de plantas ornamentais, desde flores de corte e plantas envasadas, até a produção de sementes, bulbos e mudas de árvores de grande porte. A produção de flores e plantas ornamentais é um setor altamente competitivo, exigente em tecnologias avançadas, um profundo conhecimento técnico por parte do produtor, e um sistema eficiente de distribuição e comercialização (Rocha, 1999).

O mercado de plantas ornamentais está crescendo, no Brasil e no mundo, o que traz a necessidade da melhoria da qualidade de mudas. Esse incremento de qualidade pode ser obtido por meio da micropropagação, que gera mudas isentas de fitopatógenos e com genótipo e fenótipo homogêneos (Segeren et al., 2003). As técnicas de cultivo *in vitro* são muito importantes para espécies que têm alto valor comercial para o país, como é o caso das ornamentais (Torres et al., 1998; Donini, 2004).

O meio de cultura deve suprir tecidos e órgãos com nutrientes necessários ao crescimento e, basicamente, fornece macro e micronutrientes, e um carboidrato para substituir o carbono que a planta fixa da atmosfera, pela fotossíntese. Para promover maior crescimento, normalmente, incluem-se certos componentes orgânicos, como vitaminas, aminoácidos e reguladores de crescimento (Pasqual, 2001).

Tem sido relatada a possibilidade de reduzir a concentração de sais do meio MS, para diversas espécies, visando ao melhor desenvolvimento das plantas e à redução nos custos (George & Sherrington, 1984). Paiva et al. (1997) utilizaram 50% dos sais do meio MS, obtendo um bom desenvolvimento *in vitro* de gloxínia. Concentrações de sais no meio básico MS, reduzidas a 1/2, 1/3 ou

1/4, possibilitaram melhor enraizamento *in vitro* de amoreira-preta, cultivar ‘Caiguangue’ (Dantas et al., 2000).

A concentração de sacarose também é um fator determinante no crescimento e é dependente do tipo de explante (Caldas et al., 1998). Além disso, afeta a produção de metabólitos secundários de grande importância nos processos metabólicos e na composição da parede celular (Pasqual, 2001). Estudos comprovaram que de 75% a 85% do aumento da biomassa se devem à incorporação de carbono pela adição de sacarose (De Riek et al., 1997). A concentração mais utilizada no preparo do meio de cultura MS é de 30 g.L⁻¹, entretanto, modificações nesse número podem beneficiar o cultivo *in vitro*. O excesso de sacarose pode ser prejudicial, pois inibe a síntese de clorofila, reduzindo a capacidade fotossintética das culturas, mesmo sendo essencial ao crescimento (Yamada & Sato, 1978). Embora o açúcar não seja o componente de maior custo no preparo do meio de cultura, a redução de sua concentração pode ser economicamente favorável, especialmente para a produção comercial de mudas (Hoffmann, 1999).

Objetivou-se avaliar as concentrações do meio MS e sacarose, para se obter maior multiplicação *in vitro* de copo-de-leite.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, localizado no Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Material vegetal

Plântulas de copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.) foram obtidas a partir do estabelecimento *in vitro* de gemas em meio contendo os sais do meio MS (Murashige & Skoog, 1962), acrescido de 30 g.L⁻¹ de sacarose e com pH ajustado para 5,8. Os cultivos foram mantidos em sala de crescimento, por 60 dias, com lâmpadas brancas frias proporcionando 35 μmol m⁻² s⁻¹, com 16 horas de fotoperíodo, a 27 ± 1°C.

Descrição dos tratamentos

Os tratamentos foram constituídos de diferentes concentrações de sais do meio MS (0; 50; 100, 150 e 200 %) e sacarose (0; 15; 30, 45 e 60 g.L⁻¹), nas combinações possíveis para as concentrações testadas. Ao meio adicionaram-se 5 mg.L⁻¹ de BAP e o mesmo foi solidificado com 5,5 g.L⁻¹ de ágar, o pH ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 121°C e 1 atm, por 20 minutos. Posteriormente à inoculação, os tubos foram transferidos para sala de crescimento, a 27 ± 1°C, irradiância de 35 μmol m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas.

Avaliações

Após 60 dias de cultivo, foram realizadas avaliações nos seguintes parâmetros: número e comprimento de brotos, número folhas e massa fresca da parte aérea.

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, constando de quatro repetições de três tubos cada, totalizando doze tubos por tratamento em esquema fatorial 5x5. Os resultados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o software Sisvar (Ferreira, 2000), com regressão polinomial para concentrações de MS e sacarose.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância realizada, houve interação significativa, entre os fatores sacarose e meio MS, para número de folhas (NF) e massa fresca da parte aérea (MFPA). A sacarose foi significativa para todas as variáveis analisadas e o meio MS significativo para número de folhas (NF), número de brotos (NB) e massa fresca da parte aérea (MFPA) (Anexo).

O número de brotos foi estimulado pelo aumento da concentração de sais de MS e de sacarose (Figura 1), porém, não houve interação entre esses dois fatores. Maior número de brotos (3,5) foi observado em até 30 g.L⁻¹ de sacarose, em presença de 5 mg.L⁻¹ de BAP. Concentrações maiores de sacarose promoveram diminuição no número de brotos (Figura 1A). Isso pode estar relacionado ao fato de concentrações acima de 4 % de sacarose promoverem excessivo potencial osmótico do meio e deterioração das culturas (Grattapaglia & Machado, 1998).

Encontrou-se maior número de brotos por explante (3,0) com 5 mg.L⁻¹ de BAP. Uma das funções da citocinina é induzir brotação, porém, quando aplicada em altas taxas, pode reduzir o tamanho das brotações e estimular a ocorrência de hiperidricidade e a formação de folhas anormais (Pasqual, 2001).

Os resultados encontrados por Aggarwal & Barna (2004) estão de acordo com os encontrados nessa pesquisa, pois estes autores, trabalhando com *Aloe vera*, obtiveram maior número de brotos/explante (3,3) em meio MS com 100 % dos sais contendo 1 mg.L⁻¹ de BA; já em meio contendo cinetina, a média do número de brotos/explante foi 3,1.

No trabalho de Nicoloso et al. (2003), os resultados também foram semelhantes, os autores compararam quatro concentrações de cinco fontes de carbono e a sacarose, nas concentrações de 30, 45 e 60 g.L⁻¹, foi a melhor fonte

de carboidrato para número e altura das brotações, média da altura de brotações e número total de segmentos nodais em *Pfaffia glomerata*.

A concentração de 125 % de sais do meio MS proporcionou maior número de brotos (2,14) em copo-de-leite (Figura 1B). Resultados semelhantes foram obtidos por Paiva et al. (1996), tendo esses autores observado melhor desenvolvimento de brotos, em crisântemo, em concentrações entre 50% e 150% de sais do meio MS, combinados com 6% de sacarose. Na concentração de 50% do MS, o tamanho dos brotos obtidos não foi satisfatório. Não houve diferença entre cultivares de samambaia (*Nephrolepis exaltata*) quanto ao número de brotos, que variou entre 2,0 e 2,2, após 30, 60 ou 75 dias de cultivo, sob diferentes concentrações (25, 50 e 100%) de sais do meio MS (Pessoa et al., 2004). O número de brotos de amoreira-preta (*Rubus* sp.) cultivar Ébano foi estimulado pelo aumento da concentração de sais do MS e maior número de brotos (3,9) foi observado em meio MS 150% (Villa et al., 2005). Naves (2001) verificou, em trabalhos com bromélia-imperial (*Alcantarea imperialis*), aumento no tamanho dos brotos até a concentração de 100% do meio MS. Em trabalhos com café 'Catuaí', objetivando determinar o efeito de diferentes proporções dos sais inorgânicos e componentes orgânicos do meio MS, Forni & Pasqual (1996) observaram que o aumento dos níveis de MS proporcionou maior número de brotos, número de folhas e peso da matéria seca. Chagas et al. (2004) afirmam que, para crisântemo, a concentração de 1,4 mg.L⁻¹ de BAP, em 100% dos sais de meio MS, ocasiona maior taxa de multiplicação (2,45 brotos/explante).

Chang et al. (2003) obtiveram resultados contraditórios, pois a espécie *Zantedeschia albomaculata* apresentou maior número de brotos (2,0) em meio MS 50%.

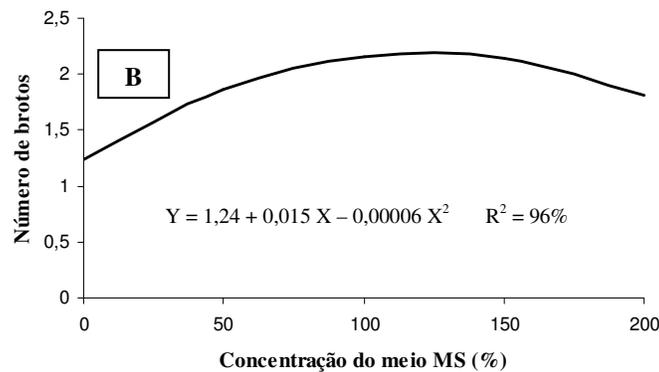
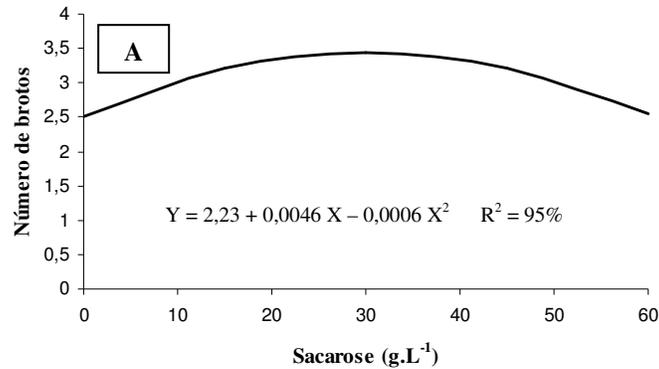


FIGURA 1. Efeito das concentrações de sacarose (A) e sais do meio MS (B), no número de brotos copo-de-leite, após 60 dias de cultivo, em meio acrescido de 5 mg.L⁻¹ de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Maior comprimento de brotos (3,42) foi observado na presença de 30 g.L⁻¹ de sacarose (Figura 2). A sacarose é a principal fonte de carbono no meio de cultura, sendo responsável pelo fornecimento de energia para o crescimento do cultivo *in vitro*, a regulação do potencial hídrico e o componente utilizado em maior concentração do meio de cultura (Grattapaglia & Machado, 1998).

Nicoloso et al. (2003), comparando quatro concentrações de cinco fontes de carbono, concluíram que a sacarose é a melhor fonte de carboidrato, considerando altura de brotações, média da altura de brotações e número total de segmentos nodais por planta, de ginseing brasileiro (*Pfaffia glomerata*).

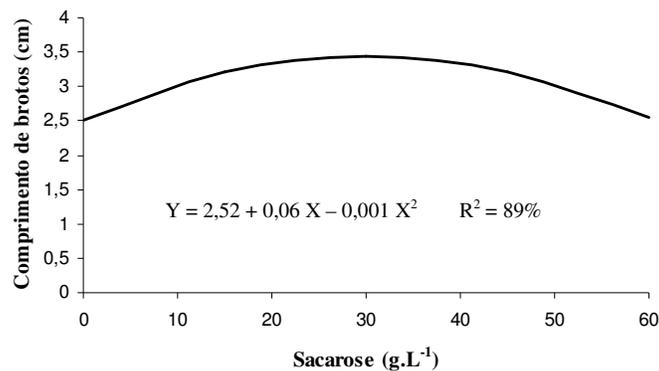


FIGURA 2. Efeito de diferentes concentrações de sacarose, no comprimento de brotos de copo-de-leite, após 60 dias de cultivo e meio acrescido de 5 mg.L⁻¹ de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Maiores números de folhas foram obtidos em MS 150% (4,13) e MS 100% (3,98) associados a 30 g.L⁻¹ de sacarose. Concentrações superiores, tanto de meio MS quanto de sacarose, diminuiram o número de folhas. Esses resultados não diferiram estatisticamente, pelo teste de médias. Portanto, visando à redução de custos, a melhor porcentagem de meio a ser utilizada é a de 100% dos sais de MS, para esta variável (Figura 3). Tanto o crescimento quanto a morfogênese em culturas *in vitro* são sensivelmente influenciados pela disponibilidade de N e a forma em que o mesmo é apresentado. Segundo Pasqual & Lopes (1991), o meio de cultura MS possui uma concentração de sais (macro e micronutrientes) considerada elevada, tornando-se, inclusive, prejudicial ao enraizamento de brotos em algumas espécies.

Resultados semelhantes em relação às concentrações de sais do meio MS foram encontrados nos estudos de Villa et al. (2005) em que maior número de folhas (7,89) em amoreira-preta (*Rubus* sp.), cultivar Ébano, foi obtido em MS 150% associado a 1 mg.L⁻¹ BAP. Com o aumento dos níveis de BAP, constatou-se decréscimo no número de folhas. Oliveira (1994), trabalhando com crisântemo, observou queda no número de folhas com aumento das concentrações de BAP. Isso pode ser atribuído ao fato desse regulador estimular a formação de maior número de brotos, porém, de tamanho reduzido, apresentando menor número de segmentos nodais e folhas.

Esses resultados discordam dos de Pessoa et al. (2004), que encontraram 2,9 folhas/explante na cultivar Bostoniensis de samambaia (*Nephrolepis exaltata*), em 100% de sais do meio MS, após 30 dias de cultivo. Ribeiro et al. (2006) encontraram 1,32 folha/explante em copo-de-leite, com 37,33 g.L⁻¹ de sacarose. Concentrações de sacarose de 3% para 5%, no meio de cultivo, promoveram aumento de massa, em folhas de rosa micropropagadas, sob condições heterotróficas ou mixotróficas (Capellades et al.,1991).

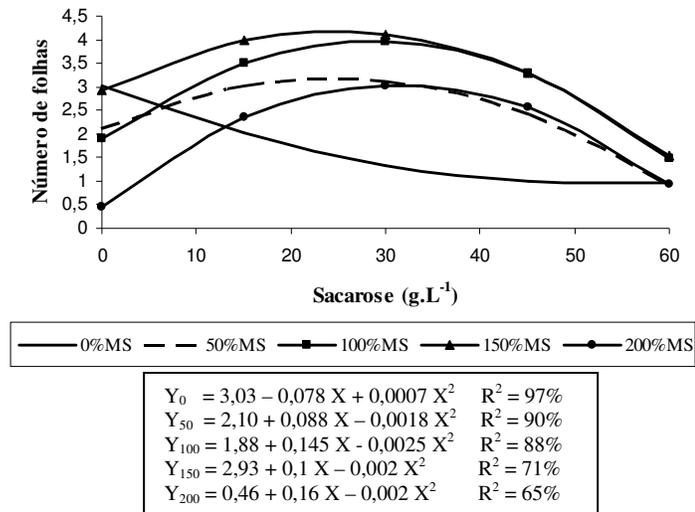


FIGURA 3. Efeito das diferentes concentrações de sais do meio MS e sacarose, no número de folhas de copo-de-leite, após 60 dias de cultivo, em meio acrescido de 5 mg.L⁻¹ de BAP. UFLA. Lavras. MG. 2007.

Maior massa fresca da parte aérea (0,9 g) foi observada na presença de 60 g.L⁻¹ de sacarose e 100% dos sais do meio MS (Figura 4). A variação nas dosagens de sacarose influenciou claramente a produção de biomassa, tanto na parte aérea como no sistema da raiz, mas, na sua ausência, não houve formação de raiz, em morango (Calvete et al, 2002). Dados semelhantes foram obtidos em morangueiro, batata, menta e videira, por Riquelme et al. (1991), em rosa por Capellades et al. (1991) e Dorion et al. (1991) e em aspargo, por Conner et al. (1992).

Villa et al. (2005) observaram maior massa fresca da parte aérea (1,52 g) de amoreira-preta (*Rubus* sp.) cultivar Ébano em 150% dos sais do meio MS. É importante ressaltar que o meio MS possui alta concentração de sais em sua composição, comparado a outros meios de cultura (Sakuta, 1987). Dessa forma,

os efeitos negativos causados por concentrações maiores do meio MS, provavelmente devem-se a uma elevação ainda maior do que a normalmente presente na composição original, tornando-se inadequada ao processo morfogênico (Pasqual et al., 2002).

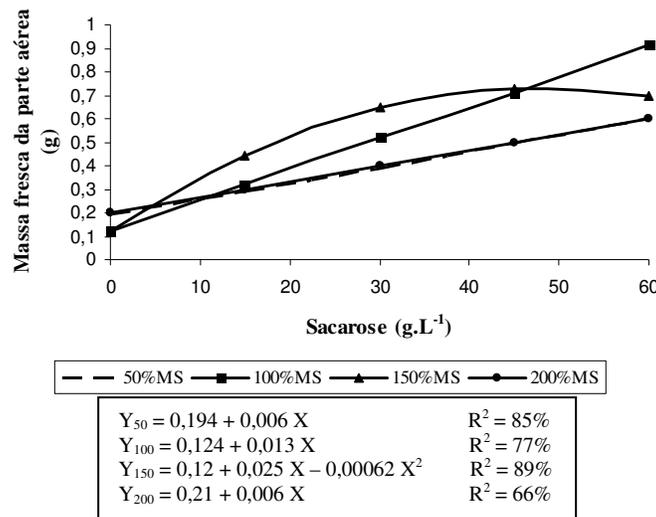


FIGURA 4. Efeito de diferentes concentrações de sais do meio MS e de sacarose na massa fresca da parte aérea de copo-de-leite, após 60 dias de cultivo em meio acrescido de 5 mg.L⁻¹ de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2007.

6 CONCLUSÕES

Maior número de brotos é obtido em 30 g.L⁻¹ de sacarose (3,5) e 125 % de sais do meio MS (2,14), sem haver interação significativa entre os fatores.

Observa-se maior comprimento de brotos (3,4 cm) em 30 g.L⁻¹ de sacarose.

Para as demais variáveis analisadas, ou seja, número de folhas (4,13) e massa fresca da parte aérea (0,9 g), melhores resultados são obtidos em 100% de meio MS associado a 30 e 60 g.L⁻¹ de sacarose, respectivamente.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGGARWAL, D.; BARNA, K. S. Tissue Culture Propagation of Elite Plant of *Aloe vera* Linn. **Journal Plant Biochemistry & Biotechnology**, New Delhi, v. 13, n. 1, p. 77-79, Jan. 2004.

CALDAS, L. S. et al. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa, 1998. v. 1, p. 87-132.

CALVETE, E. O.; KÄMPF, A. N.; SUZIN, M. Concentração de sacarose no enraizamento *in vitro* de morangueiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 186-191, jun. 2002.

CAPELLADES, M.; LEMEURE, R.; DEBERGH, P. Effects of sucrose on starch accumulation and rate of photosynthesis in *Rosa* cultured *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 25, n. 1, p. 21-26, 1991.

CHAGAS, E. A.; FRÁGUAS, C. B.; SILVA, E. F.; PASQUAL, M.; MENDONÇA, V. Multiplicação *in vitro* de crisântemo cv. White Polaris. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 1, p. 123-126, jan./mar. 2004.

CHANG, H. S.; CHAKRABARTY, D.; HAHN, E. J.; PAEK, K. Y. Micropropagation of Calla lily (*Zantedeschia albomaculata*) via *in vitro* shoot proliferation. **In vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, Wallingford, v. 39, n. 2, p. 129-134, Mar./Apr. 2003.

CONNER, A. J.; ABERNETHY, D. J.; FALLOON, P. G. Importance of *in vitro* storage root development for the successfull of micropropagated asparagus plants to greenhouse conditions. **HortScience**, Alexandria, v. 20, n. 4, p. 477-481, Aug. 1992.

- DANTAS, M. C. A.; CERETTA, M.; COUTINHO, F. E.; FORTES, G. R. L. Enraizamento *in vitro* da amoreira-preta (*Rubus* sp.) cultivar Caigangue. **Agropecuária de Clima Temperado**, Pelotas, v. 3, n. 2, p. 123-130, 2000.
- DE RIEK, J.; PIQUERAS, A.; DEBERGH, P. C. Sucrose uptake and metabolism in a double layer system for micropropagation of *Rosa multiflora*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 47, n. 3, p. 269-278, 1997.
- DONINI, L. P. **Preparo de lâminas foliares de Aráceas ornamentais: desinfestação e tratamento antioxidante**. 2004. 54 p. Monografia de conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- DORION, N.; KADRI, M; BIGOT, C. *In vitro* preservation at low temperature of rose plantlets usable for direct acclimatization. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, n. 298, p. 335-343, 1991.
- FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.
- FORNI, R. C.; PASQUAL, M. Influência da citocinina BAP e concentrações dos componentes do meio MS na micropropagação do café 'Catuaí'. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 20, n. 4, p. 468-474, out./dez. 1996.
- GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. **Plant propagation by tissue culture**. Eversley: Exegetics, 1984. 709 p.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA CNPH, 1998. p. 183-260.
- HOFFMANN, A. **Enraizamento e aclimatização de mudas micropropagadas dos porta-enxertos de maceira 'Marubakaido' e 'M-26'**. 1999. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, Sept. 1962.

NAVES, V. C. **Propagação *in vitro* da bromélia imperial [Alcantarea imperialis (Carrière) Harms]**. 2001. 64 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

NICOLOSO, F. T.; ERIG, A. C.; RUSSOWSKI, D.; MARTINS, C. F. Efeito de concentrações e fontes de carboidratos no crescimento de plantas de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen) cultivadas *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 1, p. 84-90, jan./fev. 2003.

OLIVEIRA, P. D. **Propagação *in vitro* de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzelev.) cv. Orange Reagen**. 1994. 116 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PAIVA, P. D. O.; MAYER, M. B. D.; CAMPOS, R. J. C.; RODRIGUES, V. A.; PASQUAL, M. Propagação *in vitro* de gloxínia. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 3, n. 2, p. 29-41, 1997.

PAIVA, P. D. O.; PASQUAL, M.; PAIVA, R. Efeito de diferentes concentrações do meio MS, nitrogênio e sacarose na micropropagação de crisântemo 'Orange Reagen'. **Bragantia**, Campinas, v. 55, n. 1, p. 9-18, 1996.

PASQUAL, M. Meios de cultura. In: PASQUAL, M. **Cultura de tecidos vegetais**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. v. 1, 74 p.

PASQUAL, M.; ALVES, G. P.; DUTRA, L. F.; FINOTTI, D. R.; CHAGAS, E. A. Cultivo *in vitro* de embriões imaturos de tangerina 'Poncã': concentrações do meio MS e da sacarose. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 49, n. 282, p. 181-189, mar./abr. 2002.

PASQUAL, M.; LOPES, P. A. Influência de diversos fatores sobre o enraizamento do porta-enxerto de pereira (*Pyrus calleryana*) *in vitro*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 331-334, mar. 1991.

PESSOA, C. C.; SILVA, A. L. L.; FRANCO, E. T. H.; BISOGNIN, D. A. Propagação *in vitro* de *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott. **Caderno de Pesquisa Série Biologia**, Santa Cruz do Sul, v. 16, n. 1, p. 43-49, 2004.

RIBEIRO, M. N. O.; PASQUAL, M.; VILLA, F.; CAVALLARI, L. L. Influência das concentrações de sacarose e GA₃ no desenvolvimento *in vitro* de *Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng. In: CONGRESSO ARGENTINO DE FLORICULTURA, 3., 2006, La Plata. **Anais...** La Plata: INTA, 2006.

RIQUELME, C.; GUIÑAZU, M. E.; TIZIO, R. Pre-acondicionamiento y aclimatación en condiciones de invernáculo de plantulas micropropagadas de frutilla, menta, papa y vid. **Phyton**, Buenos Aires, v. 52, n. 1, p. 73-82, 1991.

ROCHA, M. T. R. **Cultura de tecidos: uma alternativa para a multiplicação dos gêneros *Anthurium* e *Caladium***. 1999. 81 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

SAKUTA, M. Effects of nitrogen source on betacyanin accumulation and growth in suspension culture of *Phytolacca americana*. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, v. 71, n. 4, p. 459-463, Dec. 1987.

SEGEREN, M. I.; CAMPOS, K. J. P.; CORRÊA, M. G. S.; DIAS, J. C. S. Avaliações de fitossanidade de clones de orquídeas no laboratório Proclone. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 14.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS, 1., 2003, Lavras. **Resumos...** Lavras: UFLA/FAEPE, 2003. p. 423.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1998. v. 1, 864 p.

VILLA, F.; ARAÚJO, A. G.; PIO, L. A. S.; PASQUAL, M. Multiplicação *in vitro* da amoreira-preta 'Ébano' em diferentes concentrações de meio MS e BAP. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 582-589, maio/jun. 2005.

YAMADA, Y.; SATO, F. The photoautotrophic culture of chlorophyllous cells. **Plant Cell Physiology**, Kyoto, v. 19, n. 4, p. 691-699, 1978.

CAPÍTULO IV

MULTIPLICAÇÃO *in vitro* DE COPO-DE-LEITE (*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.): ESPECTROS DE LUZ E SACAROSE

1 RESUMO

RIBEIRO, Márcia de Nazaré Oliveira. **Multiplicação *in vitro* de copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.): espectros de luz e sacarose.** 2007. 83 p. Dissertação (Mestrado em agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

O espectro luminoso pode alterar a morfogênese das plantas, por meio de uma série de processos mediados por receptores de luz, principalmente na região do vermelho e azul. Objetivou-se determinar um possível tipo de luz mais ativo que a luz branca, de forma a aumentar a eficiência da multiplicação *in vitro* de copo-de-leite. Para isso, os tratamentos consistiram em quatro diferentes tipos de luz, sob os quais os explantes cresceram (branca, vermelha, azul e verde), fornecidos pelo espectro luminoso das lâmpadas fluorescentes coloridas T8 20W Ecolume 05/1 e sacarose (0; 15; 30; 45 e 60 g.L⁻¹). O meio de cultura constituiu-se dos sais e vitaminas de MS, adicionado de 5 mg.L⁻¹ de BAP e 5,5 g.L⁻¹ de ágar. O tipo de luz não influencia na multiplicação *in vitro* de copo-de-leite e se obtém maior número de brotos (2,0) em 45 g.L⁻¹ de sacarose. Observou-se maior número de folhas em luz branca (3,8) e azul (2,9) com 15 e 60 g.L⁻¹ de sacarose, respectivamente. Maior comprimento dos brotos (3,7) foi observado em 60 g.L⁻¹ de sacarose e maior massa fresca da parte aérea (1,07) em 60 g.L⁻¹ de sacarose.

* Orientador: Moacir Pasqual – UFLA.

2 ABSTRACT

RIBEIRO, Márcia de Nazaré Oliveira. **Calla lily (*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.) *in vitro* multiplication: spectrum of light and sucrose.** 2007. 83 p. Dissertation (Master in Agronomy/Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil*.

The luminous spectrum can to modify the plants morphogenesis through a number of processes mediated by light receptors, mainly at the red and blue region. The aim of this work was to determine a possible light type more active than the white light, in order of increasing the efficiency of the *in vitro* multiplication of calla lily. For that, the treatments consisted of four different light types (white, red, blue and green), under which the explants grew, supplied through the modification of the luminous spectrum of the T8 20W Ecolume 05/1 fluorescent lamps colored and sucrose (0; 15; 30; 45 and 60 g.L⁻¹). The culture medium was constituted of MS salts and vitamins, added of 5 mg.L⁻¹ BAP and 5.5 g.L⁻¹ agar. The type of light did not influenced *in vitro* propagation of Calla lily and there was higher number of sprouting (2,0) in 45 g.L⁻¹ of sucrose. There was higher number of leaves in white (3,8) and in blue light (2,9) with 15 and 60 g.L⁻¹ of sucrose, respectively. Higher length of sprouting (3,7) was observed in 60 g.L⁻¹ of sucrose and higher fresh weight of the aerial part (1,07 g) in 60 g.L⁻¹ of sucrose.

* Adviser: Moacir Pasqual – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

Existem vários fatores determinantes do crescimento e do desenvolvimento na maioria dos sistemas de cultivo *in vitro*. Entre eles, estão as condições de luz a que as culturas estão expostas. Os processos fotossintéticos e fotomorfogenéticos são influenciados pela luz incidente, principalmente em relação à qualidade (comprimento de onda), à quantidade (fluxo de fótons) e duração (fotoperíodo). Os componentes comprimento de onda e densidade de fluxo luminoso podem ter efeitos positivos e ou negativos no cultivo *in vitro* (Seabrook, 1987; Kodym & Zapata-Arias, 1998; Kozai et al., 1991). Vários estudos têm sido realizados com diferentes espécies, as quais são submetidas a diferentes condições de luminosidade, por meio da modificação do espectro luminoso com o uso de filtros ou lâmpadas coloridas.

A luz é um fator fundamental para as plantas, pela ação direta ou indireta na regulação de seu crescimento e desenvolvimento (Morini & Muleo, 2003). As respostas da planta não dependem apenas de ausência ou presença de luz, mas também da variação em qualidade luminosa (Felippe, 1986). Para otimizar a captação da energia luminosa para a fotossíntese, as plantas desenvolveram uma série de fotorreceptores que regulam seu crescimento e desenvolvimento em relação a presença, quantidade, direção, duração e qualidade da radiação luminosa incidente (Morini & Muleo, 2003).

As lâmpadas fluorescentes, bastante comuns em salas de crescimento de laboratórios, são citadas, em 90% dos trabalhos com pesquisas em cultura de tecidos, como a principal fonte de luz utilizada (Dooley, 1991). O custo referente à iluminação em sala de crescimento pode atingir 65% do total de gastos com energia elétrica (Standaert-de-Metsanaere, 1991), na produção de

mudas em laboratório, sendo superado apenas pelos gastos com mão-de-obra (Dooley, 1991).

A alta irradiância pode afetar diretamente o desenvolvimento das plantas *in vitro*, apresentando efeito sobre a lamina foliar e modificando características, tais como espessura foliar, diferenciação do mesófilo, divisão celular e desenvolvimento dos estômatos (Lichtenthaler et al., 1981; Terry et al., 1983, citados por Lee et al., 1988). O fator luz também influencia a fotossíntese, a concentração de clorofila e a estrutura dos cloroplastos, em plantas cultivadas *in vitro* (Lee et al., 1988).

Kodym & Zapata-Arias (1998) afirmam que, além dos reguladores de crescimento, a luz também influencia na taxa de multiplicação e no crescimento dos explantes *in vitro*. Esses autores observaram que maior número de brotos por explantes de bananeira foi obtido em casa-de-vegetação. Uma provável explicação para essa elevada taxa de multiplicação seria que a alta intensidade luminosa poderia estar reduzindo as concentrações de auxinas endógenas das gemas pela fotoxidação, provocando um desbalanceamento hormonal em direção às citocininas (Radmann et al., 2001; Soontouchainaksaeng et al., 2001).

As *Zantedeschias* são plantas economicamente importantes e as plântulas oriundas de cultura de tecidos são uma alternativa de material para plantio, principalmente para a produção de rizomas ou flores de corte (Clemens & Welsh, 1993). Contudo, existem poucas informações disponíveis sobre como a qualidade da luz influencia o crescimento de *Zantedeschia in vitro*. Em consequência disso, o presente trabalho teve como objetivo verificar a influência da diferentes espectros de luz e da sacarose sobre a taxa de multiplicação *in vitro* de copo-de-leite.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, localizado no Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Material vegetal

Plântulas de copo-de-leite (*Zantedeschia aethiopica* (L.) Spreng.) foram obtidas a partir do estabelecimento *in vitro* de gemas em meio contendo os sais do meio MS (Murashige & Skoog, 1962), acrescido de 30 g.L⁻¹ de sacarose e com pH ajustado para 5,8. Os cultivos foram mantidos em sala de crescimento, por 60 dias, com lâmpadas brancas frias proporcionando 35 μmol m⁻² s⁻¹, com 16 horas de fotoperíodo, a 27 ± 1°C.

Descrição dos tratamentos

Plântulas produzidas na etapa anterior com, aproximadamente, 1,0 cm de comprimento, foram utilizadas em meio MS. Os tratamentos foram constituídos de diferentes espectros de luz (branca, vermelha, azul e verde), fornecidos pelo espectro luminoso de lâmpadas fluorescentes coloridas T8 20W Ecolume 05/1 e sacarose (0; 15; 30; 45 e 60 g.L⁻¹), em todas as combinações possíveis. O meio foi acrescido de 5 mg.L⁻¹ de BAP, o pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121°C e 1 atm, por 20 minutos. Posteriormente à inoculação, os tubos foram transferidos para sala de crescimento, a 27 ± 1°C, irradiância de 35 μmol m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas.

Avaliações

Após 60 dias de cultivo, foram realizadas avaliações nos seguintes parâmetros: número e comprimento de brotos, número de folhas e massa fresca da parte aérea.

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial de luz (branca, vermelha, azul e verde) e sacarose (0; 15; 30; 45 e 60 mg.L⁻¹), compondo um fatorial 4x5, totalizando 20 tratamentos com 4 repetições de três plântulas cada. Os resultados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o software Sisvar (Ferreira, 2000), sendo as médias de luz comparadas pelo teste de Scott & Knott e as de sacarose por regressão, a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância mostrou interação significância entre os fatores espectros de luz e sacarose, apenas para número de folhas (NF). A sacarose foi significativa para número de folhas (NF), número de brotos (NB) e massa fresca da parte aérea (MFPA). O tipo de luz foi significativo para número de folhas (NF) e número de brotos (NB) (Anexo).

Observou-se maior número de brotos (2,2) com 45 g.L⁻¹ de sacarose (Figura 1) e o aumento da mesma diminui o número de brotos. Para *Zantedeschia* sp. 50% de sais do meio MS contendo 90 g.L⁻¹ de sacarose aumentaram o desenvolvimento de microrizomas (Kubo et al., 2005). Concentrações de 2% a 4 % de sacarose são mas utilizadas para o crescimento e

a multiplicação *in vitro*, porém, altas concentrações foram eficientes para a multiplicação de *Eucalyptus ficifolia* (De Fossard et al., 1978). Em cultura de embriões, nos estádios iniciais de crescimento, são necessárias elevadas concentrações de sacarose, em torno de 12% a 18%. A concentração de sacarose afeta a assimilação de nutrientes e o efeito de reguladores de crescimento, além disso, afeta a produção de metabólitos secundários, de grande importância nos processos metabólicos e na composição da parede celular (Pasqual, 2001).

Resultados contraditórios foram encontrados em *Zantedeschia albomaculata*, em que maior número de brotos (2,0) ocorreu em luz branca e vermelha + azul (Chang et al., 2003). Na multiplicação *in vitro* do porta-enxerto de Prunus GF 677, Morini & Muleo (2003) obtiveram maior número de brotos em luz branca. Erig & Schuch (2006), estudando a multiplicação *in vitro* de macieira, cultivares Galaxy e Mastergala, observaram que maior número de brotos (2,04) foi obtido na cultivar Mastergala, em presença de 4,4 µM de BAP, em luz branca e amarela.

Para framboesa (*Rubus idaeus* L.), maior número de brotos foi obtido com as luzes verde (3,55) e vermelha (3,14) (Erig & Schuch, 2005). Plantas cultivadas sob luz azul podem resultar em altas taxas de brotações laterais, devido à quebra da dominância apical causada pela degradação de auxinas nessa faixa do espectro (Chee & Pool, 1989; Silva & Debergh, 1997). No cultivo *in vitro* do porta-enxerto de macieira MM106, a luz verde proporcionou a maior taxa de proliferação de brotos (Casano, 1995). Marks & Simpson (1999), trabalhando com o cultivo de *Disanthus cercidifolius* e com cultivares de *Rhododendron* e *Crataegus oxyacantha*, concluíram que a luz vermelha promoveu a maior brotação. Luca et al. (2001) verificaram que as plantas de *Alternanthera brasiliana* L., cultivadas sob luz verde, formaram até 4 brotos/explante, enquanto, sob luzes vermelha e branca e no escuro, o número de brotos foi 2/explante. A luz vermelha, em comparação com a luz branca,

também incrementou o número de brotos axilares em culturas *in vitro* de *Rhododendron*, *Potentilla* e *Spiraea* (Norton et al., 1988).

A intensidade luminosa, além de influenciar no crescimento e na proliferação de brotos, pode afetar também, diretamente, a formação de raízes, podendo reduzir sua formação (Economou & Read, 1987). Como a função do tipo de luz no crescimento e no desenvolvimento das plantas ainda não está bem esclarecida (Hahn et al., 2000), ela pode variar com a espécie de planta, o estágio de crescimento, as condições ambientais, a composição do meio de cultura e a ventilação. Por essa razão, estudos detalhados são necessários para correlacionar o tipo de luz às condições de crescimento e, inclusive, aos objetivos do cultivo.

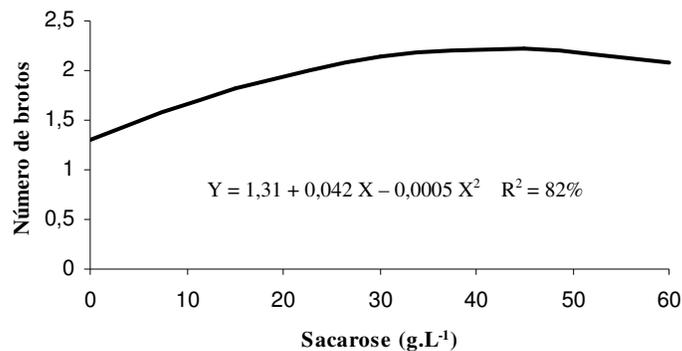


FIGURA 1. Número de brotos de copo-de-leite sob diferentes concentrações de sacarose, ao longo de 60 dias de cultivo, em meio MS acrescido de 5 mg.L⁻¹ de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Maior comprimento de brotos (3,7) foi observado em alta concentração de sacarose, 60 mg.L⁻¹ (Figura 2). Discordando desses resultados, Luca et al. (2001) demonstraram que plântulas de *Alternanthera brasiliana* desenvolvidas sob luz azul e verde apresentaram crescimento por alongamento dos brotos (4,0)

mais acentuado. Chang et al. (2003) observaram maior comprimento de brotos em luz vermelha (9,76) e luz azul (9,34) em *Zantedeschia albomaculata*. Erig & Schuch (2006) observaram que, na cultivar Mastergala a luz amarela proporcionou o melhor resultado para o comprimento do broto mais desenvolvido (0,88 cm) em macieira. Turchetto et al. (2005) observaram, em Tagetes, o crescimento dos brotos (90,9 mm) sob luz azul, em meio MS e 50 g.L⁻¹ de sacarose.

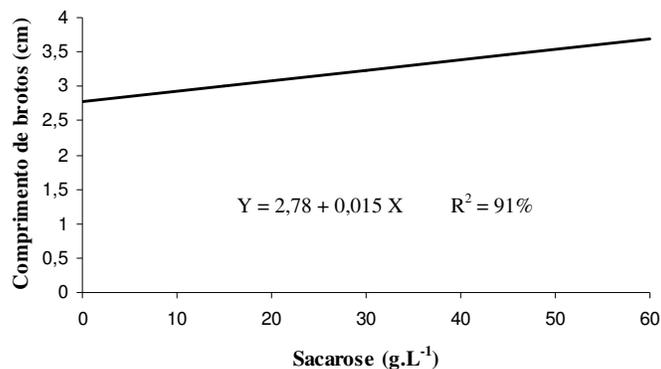


FIGURA 2. Comprimento de brotos de copo-de-leite em diferentes concentrações de sacarose, ao longo de 60 dias de cultivo, em meio MS acrescido de 5 mg.L⁻¹ de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2007.

A interação significativa para número de folhas foi observada em luz branca (3,8), seguida de luz azul (2,9), associadas a 15 e 60 g.L⁻¹ de sacarose, respectivamente (Figura 3). A luz branca é a mais utilizada em cultura de tecidos e seus efeitos sobre a morfogênese já são conhecidos. A luz azul é importante na formação da clorofila, no desenvolvimento do cloroplasto, na abertura do estômato e na fotomorfogênese (Morgan & Smith, 1981; Senger, 1982; Akoyunoglou & Anni, 1984). Resultados semelhantes ocorreram em

Alternanthera brasiliana, que apresentou maior número de folhas/plântula em presença de luz azul, seguida pelas submetidas às luzes branca e verde (Luca et al., 2001).

Maior teor de sacarose no meio de cultivo corresponde à maior concentração de carboidratos no tecido foliar. Em consequência, as folhas têm capacidade de permanecer mais tempo na planta (Calvete et al., 2002). O aumento na concentração de sacarose do meio de 3% para 5% promoveu aumento de massa, em folhas de rosa micropropagadas sob condições heterotróficas ou mixotróficas (Capellades et al., 1991).

As citocininas e a luz causam efeitos no desenvolvimento dos cotilédones e das folhas, no controle da dominância apical e na diferenciação dos cloroplastos. A transcrição de numerosos genes do cloroplasto é induzida tanto pela luz quanto por citocininas (Cohen et al., 1998; Bracale et al., 1998). Em mutantes de tabaco com alterações nos níveis de fitocromos, foi observada metade dos níveis de citocininas, comparados aos do tipo selvagem, sugerindo um controle dos níveis de citocininas pela luz.

Segundo Salisbury & Ross (1992), as folhas irradiadas com luz branca absorvem mais as longitudes de ondas azul e vermelha e grande parte do verde. Talvez esse fato justifique os resultados deste trabalho, apesar das luzes vermelha e verde não terem proporcionado os melhores resultados.

Geralmente, luz azul e vermelha são fortemente atenuadas na parte superior da folha, enquanto luz verde e vermelho-distante são transmitidas mais profundamente dentro da folha (Cui et al., 1991; Gates et al., 1965; Strain, 1950; Terashima & Saeki, 1985; Vogelmann, 1993).

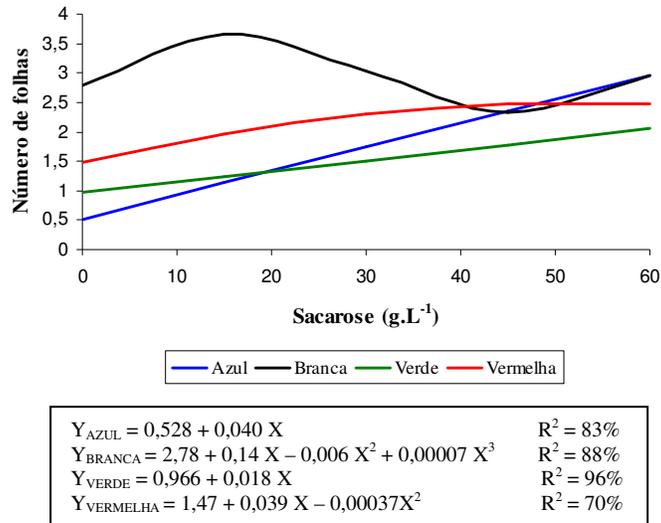


FIGURA 3. Número de folhas de copo-de-leite em diferentes espectros de luz e sacarose, após 60 dias de cultivo em meio MS acrescido de 5 mg.L⁻¹ de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Maior massa fresca da parte aérea (1,07) foi observada em presença de 60 g.L⁻¹ de sacarose (Figura 4). Obtiveram-se resultados contrastantes em *Zantedeschia albomaculata*, pois, para esta espécie, maior massa fresca da parte aérea (0,40) foi observada em luz vermelha (Chang et al., 2003).

George (1996) afirmou que plântulas desenvolvidas em meio com 60 g.L⁻¹ de sacarose, podem ter seu desenvolvimento da parte aérea inibido. Appelgren (1991) mostrou aumento significativo na elongação do caule de plântulas de *Pelargonium* cultivado *in vitro* e Aksenova et al. (1994) afirmaram que plântulas de batata cultivadas *in vitro* produziram caules mais longos e maiores taxas de brotos e raízes sob luz vermelha.

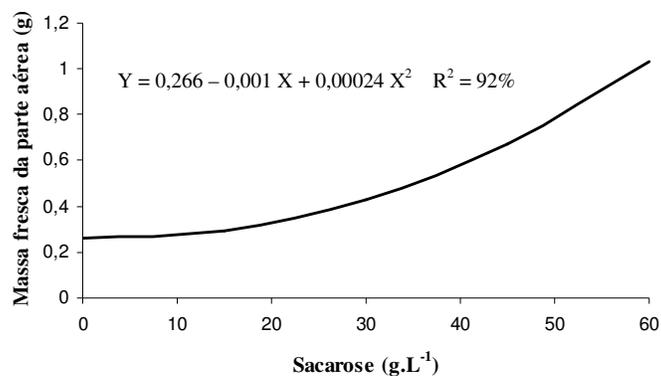


FIGURA 4. Massa fresca da parte aérea de copo-de-leite sob diferentes concentrações de sacarose, após 60 dias de cultivo, em meio MS acrescido 5 mg.L⁻¹ de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2007.

6 CONCLUSÕES

O tipo de luz não influencia na multiplicação *in vitro* de copo-de-leite e se obtém maior número de brotos (2,0) em 45 g.L⁻¹ de sacarose.

Observa-se maior número de folhas em luz branca (3,8) e azul (2,9), em 15 e 60 g.L⁻¹ de sacarose, respectivamente.

Maior comprimento dos brotos (3,7) é observado em 60 g.L⁻¹ de sacarose e maior massa fresca da parte aérea (1,07) em 60 g.L⁻¹ de sacarose.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKOYUNOGLU, G.; ANNI, H. Blue light effect on chloroplast development in higher plants. In: SENGER, H. (Ed.). **Blue light effects in biological systems**. Berlin: Springer-Verlag, 1984. p. 397-406.

AKSENOVA, N. P.; KONSTANTINOVA, T. N.; SERGEEVA, L. I.; MACHACKOVA, I.; GOLYANOVSKAYA, S. A. Morphogenesis of potato plants *in vitro*. I. Effect of light quality and hormones. **Journal of Plant Growth Regulators**, New York, v. 13, n. 3, p. 143-146, 1994.

APPELGREN, M. Effects of light quality on stem elongation of *Pelargonium in vitro*. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 45, n. 3/4, p. 345-351, Jan. 1991.

BRACALE, M.; LONGO, G. P.; ROSSI, G.; LONGO, G. P. Early changes in morphology and polypeptide pattern of plastids from watermelon cotyledons induced by benzyladenine or light are very similar. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 72, n. 1, p. 94-100, Jan. 1998.

CALVETE, E. O.; KÄMPF, A. N.; SUZIN, M. Concentração de sacarose no enraizamento *in vitro* de morangueiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 186-191, jun. 2002.

CAPELLADES, M.; LEMEUR, R.; DEBERGH, P. Effects of sucrose on starch accumulation and rate of photosynthesis in *Rosa* cultured *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 25, n. 1, p. 21-26, apr. 1991.

CASANO, S. **Effetti della qualità della luce sulla morfogenesi di specie arboree da frutto coltivate *in vitro***. 1995. 97 f. Dissertazione (Dottorato di Ricerca in Ortoflorofruitticoltura) - Università Degli Studi di Pisa, Pisa.

CHANG, H. S.; CHAKRABARTY, D.; HAHN, E. J.; PAEK, K. Y. Micropropagation of Calla lily (*Zantedeschia albomaculata*) via *in vitro* shoot proliferation. **In vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, Wallingford, v. 39, n. 2, p. 129-134, Mar./Apr. 2003.

CHEE, R.; POOL, R. M. Morphogenetic responses to propate trimming, spectral irradiance, and photoperiod of grapevine shoots recultured *in vitro*. **Journal of**

the American Society for Horticultural Science, Alexandria, v. 114, n. 2, p. 350-354, Mar. 1989.

CLEMENS, J.; WELSH, T. E. An overview of the New Zealand calla industry, research directions and year-round tuber production. **Acta Horticulturae** Amsterdam, v. 337, p. 161-166, 1993.

COHEN, L.; ARZEE, T.; ZILBERSTEIN, A. Mimicry by cytokinin of phytochromeregulated inhibition of chloroplast development in etiolated cucumber cotyledons. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 72, n. 1, p. 57-64, Jan. 1998.

CUI, M.; VOGELMANN, T. C.; SMITH, W. K. Chlorophyll and light gradients in sun and shade leaves of *Spinacia oleracea*. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v. 14, n. 5, p. 493-500, June 1991.

DE FOSSARD, R. A.; BENNETT, M. T.; GORST, J. R.; BOURNE, R. A. Tissue culture propagation of *Eucalyptus ficifolia* F. Muell. **Combined Proceedings of the International Plant Propagators Society**, Amsterdam, v. 28, p. 427-435, 1978.

DOOLEY, J. H. Influence of lighting spectra on plant tissue. In: METTING OF AMERICAN SOCIETY OF AGRICULTURAL ENGINEERS, 1991, Chicago. **Proceedings...** Chicago: [S. n.], 1991.

ECONOMOU, A. S.; READ, P. E. Light treatments to improve efficiency of *in vitro* propagation systems. **HortScience**, Alexandria, v. 22, n. 5, p. 751-754, Oct. 1987.

ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Tipo de luz na multiplicação *in vitro* de framboeseira (*Rubus idaeus* L.) 'Batum'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 3, p. 488-490, dez. 2005.

ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Ação da 6-Benzilaminopurina e da qualidade da luz na multiplicação *in vitro* de macieira (*Malus domestica* Borkh.) cvs. Galaxy e Mastergala. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 2, p. 151-155, abr./jun. 2006.

FELIPPE, G. M. Fotomorfogênese. In: FERRI, M. G. (Coord.). **Fisiologia vegetal** 2. 2. ed. São Paulo: EPU, 1986. p. 231-280.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., São Carlos. **Anais**, São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

GATES, D. M.; KEEGAN, H. J.; SCHLETER, J. C.; WEIDNER, V. R. Spectral properties of plants. **Applied Optics**, Washington, v. 4, n. 1, p. 11-20, 1965.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. 2. ed., Edington: Exegetics, 1996. 1361 p. Part 2: In Practice.

HAHN, E. J.; KOZAI, T.; PAEK, K. Y. Blue and red light emitting diodes with or without sucrose and ventilation affect *in vitro* growth of *Rehmannia glutinosa* plantlets. **Journal of Plant Biology**, New York, v. 43, p. 247-250, 2000.

KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F. J. Natural light as an alternative light source for the *in vitro* culture of banana (*Musa acuminata* cv. "Grande Naine"). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 55, n. 2, p. 141-145, 1998.

KOZAI, T.; IWABUCHI, K.; WATANABE, K.; WATANABE, I. Photoautotrophic and photomixotrophic growth of strawberry plantlets *in vitro* and changes in nutrient composition of the medium. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 25, n. 2, p. 107-115, May 1991.

KUBO, T.; MORI, G.; ODA, M. Factors affecting the formation and growth of microtubers in *Zantedeschia* plantlets. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Kyoto, v. 74, n. 1, p. 47-50, Jan. 2005

LEE, N.; WESZTEIN, Y.; SOMMER, H. E. Quantum Flux Density Effects on the anatomy and Surface Morphology of *in vitro*-and *in vivo* developed Sweetgum Leaves. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 113, n. 1, p. 167-171, Jan. 1988.

LUCA, R. L.; MACEDO, A. F.; CECHINEL, V. F.; LAGE, C. L. S.; ESQUIBEL, M. A. Ação de diferentes faixas do espectro luminoso na otimização da produção de *Alternanthera brasiliana* L., uma planta medicinal. In: ENCUESTRO LATINOAMERICANO DE BIOTECNOLOGÍA VEGETAL, 4., 2001, Goiânia-GO. **Anais**, Goiânia: Redbio, 2001. 6 p.

- MARKS, T. R.; SIMPSON, S. E. Effect of irradiance on shoot development *in vitro*. **Plant Growth Regulator**, Farnham Royal, v. 28, n. 2, p. 133-142, June 1999.
- MORGAN, D. C.; SMITH, H. Non-photosynthetic responses to light quality. In: PIRSON, A.; ZIMMERMAN, M. H. (Ed.). **Encyclopedia of plant physiology. New series 12A**. Berlin: Springer-Verlag, 1981. p. 109-134.
- MORINI, S.; MULEO, R. Effects of light quality on micropropagation of woody species. In: JAIN, S.M.; ISHII, K. **Micropropagation of woody trees and fruits**. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 2003. p. 3-35.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, Sept. 1962.
- NORTON, C. R.; NORTON, M. E.; HERRINGTON, T.; PHILLIPS, D. Light quality and light pipe in the micropropagation of woody ornamental plants. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, n. 226, p. 413-416, 1988.
- PASQUAL, M. Meios de cultura. In: PASQUAL, M. **Cultura de tecidos vegetais**. Lavras: UFLA/FAEPE, v. 1, 2001. 74 p.
- RADMANN, E. B.; BRAGA, E. J. B.; KARAN, M. A. L.; POSADA, M. A. C.; PETERS, J. A. Influência da densidade de fluxo luminoso na qualidade de plantas micropropagadas de *Gypsophila paniculata* L. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 7, n. 3, p. 171-175, jan./abr. 2001.
- SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. Relación fotosíntesis – transpiración. In: **Fisiología vegetal**. México: Grupo Editorial Iberoamérica, 1992. p. 71-100.
- SEABROOK, J. E. A. Changing the growth and morphology of potato plantlets *in vitro* by varying the illumination source. **Acta Horticulture**, Amsterdam, v. 212, p. 401-410, 1987.
- SENGER, H. The effect of blue light on plants and microorganisms. **Phytochemistry & Photobiology**, New York, v. 35, n. 6, p. 911-920, 1982.
- SILVA, M. H.; DEBERGH, P. C. The effect of light quality on the morphogenesis of *in vitro* cultures of *Azorina vidalii* (Wats.) Feer. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 51, n. 3, p. 187-193, 1997.

SOONTOUNCHAINAKSAENG, P.; CHAICHAROEN, S.; SIRIJUNTARUT, M.; KRUATRACHUE, M. *In vitro* studies on the effect of light intensity on plant growth of *Phaius tankervilleae* (Banks ex L' Herit) Bl. and *Vanda coerulea* Giff. **Science Asia**, Shanghai, v. 27, p. 233-237, 2001.

STANDAERT-DE-METSANAERE, R. E. Economic considerations. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. (Ed.). **Micropropagation** – technology and application. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991. p. 131-140.

STRAIN, H. H. Cellular opacity and the activity of chloroplast pigments in photosynthesis. **Science**, Washington, v. 112, n. 2902, p. 161-164, 1950.

TERASHIMA, I.; SAEKI, T. A new model for leaf photosynthesis incorporating the gradients of light environment and of photosynthetic properties of chloroplasts within a leaf. **Annals of Botany**, London, v. 56, n. 4, p. 489-499, 1985.

TURCHETTO, A. C.; NASSI, F. L.; RIBEIRO, M. V.; ZANANDREA, I.; SCHUCH, M. W.; PETERS, J. A.; BRAGA, E. J. B. Influência da qualidade da luz na multiplicação *in vitro* de *Tagetes* sp. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 14., 2005, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, 2005.

VOGELMANN, T. C. Plant tissue optics. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 44, p. 233-251, 1993.

ANEXO

TABELA 1. Resumo da análise de variância para número de folhas (NF), número de brotos (NB), comprimento dos brotos (CB) e massa fresca da parte aérea (MFPA) das plântulas de copo-de-leite submetidas a diferentes concentrações de BAP e SA. UFLA, Lavras, MG, 2007.

FV	GL	QM			
		NF	NB	CB	MFPA
BAP	3	21,56 ^{**}	8,80 ^{**}	4,59 ^{**}	0,2467 ^{**}
SA	3	1,76 ^{**}	0,19 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,0582 ^{**}
BAP*SA	9	1,29 ^{**}	0,60 ^{ns}	1,63 ^{ns}	0,0789 ^{**}
Resíduo	48	0,59	0,33	1,11	0,0097
Total	63				
CV (%)		25,72	27,38	23,26	30,43

ns = não significativo.

^{**}Significativo, a 5% de probabilidade.

TABELA 2. Resumo da análise de variância para número de folhas (NF), número de brotos (NB), comprimento dos brotos (CB) e massa fresca da parte aérea (MFPA) das plântulas de copo-de-leite submetidas a diferentes concentrações de meio de cultivo MS e sacarose. UFLA, Lavras, MG, 2007.

FV	GL	QM			
		NF	NB	CB	MFPA
SAC	4	14,54 ^{**}	2,88 ^{**}	4,09 ^{**}	0,6664 ^{**}
MS	4	7,97 ^{**}	2,87 ^{**}	1,12 ^{ns}	0,3063 ^{**}
SAC*MS	16	2,71 ^{**}	0,21 ^{ns}	0,68 ^{ns}	0,1041 ^{**}
Resíduo	75	0,15	0,34	0,51	0,0308
Total	99				
CV (%)		16,41	31,75	23,99	42,22

ns = não significativo.

^{**}Significativo, a 5% de probabilidade.

TABELA 3. Resumo da análise de variância para número de folhas (NF), número de brotos (NB), comprimento dos brotos (CB) e massa fresca da parte aérea (MFPA) das plântulas de copo-de-leite submetidas a diferentes espectros de luz e sacarose. UFLA, Lavras, MG, 2007.

FV	GL	QM			
		NF	NB	CB	MFPA
SAC	4	4,18**	2,69**	2,28 ^{ns}	1,7467**
LUZ	3	8,02**	1,03**	2,33 ^{ns}	0,1725 ^{ns}
SAC*LUZ	12	1,12**	0,13 ^{ns}	0,80 ^{ns}	0,0181 ^{ns}
Resíduo	60	0,1	0,17	0,79	0,0497
Total	79				
CV (%)		14,99	21,15	27,46	41,26

ns = não significativo.

** Significativo, a 5% de probabilidade.