

## NOTA CIENTÍFICA

### MICROPROPAGAÇÃO DE *GYPSOPHILA* PELA CULTURA DE SEGMENTOS NODAIS

### MICROPROPAGATION OF *Gypsophila paniculata* THROUGH CULTURE OF NODAL SEGMENTS

Marguerite Germaine Ghislaine QUOIRIN<sup>1</sup>

Luiz Antonio BIASI<sup>2</sup>

José Fernando RIOS<sup>3</sup>

Francine Lorena CUQUEL<sup>4</sup>

#### RESUMO

*Gypsophila paniculata* é uma das principais flores de corte comercializadas no mercado brasileiro. Comercialmente ela é propagada por métodos vegetativos *in vitro*, entretanto poucas informações científicas são disponíveis sobre este assunto. Este trabalho teve como objetivo estabelecer um protocolo de micropropagação desta espécie. As plantas matrizes de *Gypsophila paniculata* cv Golan foram obtidas de produtor comercial, plantadas em vasos de 20 L e mantidas em casa-de-vegetação, com temperatura e umidade controladas. Como explantes, foram utilizados segmentos nodais com um a dois centímetros de comprimento. Os explantes foram submetidos a tratamento com álcool 70% durante 30 segundos, seguido por hipoclorito de sódio 2% durante 10 min. Em seguida, foram cultivados em meio MS contendo duas concentrações de cinetina (CIN), com ou sem 3,0  $\mu\text{M}$  de ácido naftalenoacético e com 0,3  $\mu\text{M}$  de giberelina ( $\text{GA}_3$ ). O melhor resultado de multiplicação destes segmentos nodais foi obtido no meio MS com 0,5  $\mu\text{M}$  de CIN e 0,3  $\mu\text{M}$  de  $\text{GA}_3$ .

**Palavras-chave:** floricultura; planta ornamental; cultura de tecidos *in vitro*; mosquitinho.

#### ABSTRACT

*Gypsophila paniculata* is one of the principal cut flowers on the Brazilian market. Commercially it is propagated by *in vitro* methods, however very few scientific information is available about it. The goal of this work was to establish *in vitro* technology to propagate *Gypsophila paniculata* through nodal segments. *Gypsophila* plants cultivar Golan obtained from a grower were used to start this research. They were planted in pots and maintained inside greenhouse under controlled temperature and relative humidity. Nodal segments one to two centimeters long were removed from these plants and immersed in alcohol 70% during 30 s, followed by sodium hypochlorite 2% during 10 min. They were then cultured *in vitro* on MS medium containing two concentrations of kinetin (KIN), with or without 3  $\mu\text{M}$  naphthalenacetic acid and with 0.3  $\mu\text{M}$  gibberellin ( $\text{GA}_3$ ). Better multiplication of the nodal segments was obtained in MS media containing 0.5  $\mu\text{M}$  KIN and 0.3  $\mu\text{M}$   $\text{GA}_3$ .

**Key-words:** floriculture; ornamental plant; *in vitro* tissue culture; baby breath.

<sup>1</sup> Engenheira Agrônoma, Profa. Dra. do Departamento de Botânica, Setor de Ciências Biológicas, UFPR, Caixa Postal 19031, 81531-990, Curitiba, PR. E-mail: mquoirin@ufpr.br. Autor para correspondência.

<sup>2</sup> Engenheiro Agrônomo, Prof. Dr. do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da UFPR. E-mail: biasi@ufpr.br

<sup>3</sup> Engenheiro Agrônomo, Mestre em Agronomia.

<sup>4</sup> Engenheira Agrônoma, Profa. Dra. do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da UFPR. E-mail: francine@ufpr.br

## INTRODUÇÃO

A espécie *Gypsophila paniculata* L., conhecida popularmente como mosquitinho, pertence à família *Caryophyllaceae* Lindl., a qual possui cerca de 80 gêneros e 2000 espécies com ampla distribuição em todas as regiões do globo (GEMTCHUJNICOV, 1976). A *Gypsophila paniculata* é uma planta originária da Europa e da Ásia Ocidental, região onde predomina o clima temperado. Das várias espécies do gênero, somente a *Gypsophila paniculata* tem sido cultivada comercialmente como flor-de-corte (ARTEAGA e AMEZQUITA, 1990a). São plantas arbustivas, perenes, de formas arredondadas chegando a ter um metro de altura (BARROSO, 1978). Possuem ramos muito finos e folhas lineares. Sua floração natural ocorre no final da primavera e continua até o outono, podendo gerar dois ou três cortes de flores neste período (SHILLO e HALEVY, 1985). É uma planta de clima temperado, de dias longos, a qual sob condições controladas de cultivo pode produzir flores o ano todo. As flores brancas, pequenas e numerosas, são muito apreciadas como flores-de-corte para formar arranjos florais com outras plantas (INFOAGRO, 2002). No Brasil, o cultivo de *Gypsophila paniculata* tem aumentado significativamente, destacando-se como sendo um dos dez produtos mais vendidos no Veilling Holambra (SP), assim como nos onze principais países produtores de flores e plantas ornamentais (CASTRO, 1998).

Muitos são os fatores relacionados ao cultivo e desenvolvimento desta cultura, em particular, destaca-se a propagação da espécie. Esta é restrita porque muitas variedades são unissexuais e não produzem sementes (SHILLO e HALEVY, 1985). Portanto, a propagação vegetativa por estacas em condições apropriadas proporciona plantas com crescimento e floração semelhantes às plantas matrizes (ARTEAGA e AMEZQUITA, 1990b). Entretanto, este processo pode apresentar problemas fitossanitários que são introduzidos nas áreas de cultivo pelo material propagativo contaminado. A planta pode ser contaminada pela bactéria *Erwinia herbicola* pv. *Gypsophilae* (Ehg), a qual causa a formação de galhas (COOKSEY, 1986) e esta doença pode causar 30 a 60 % das perdas de plantas de *Gypsophila paniculata* em campos comerciais e pode ser o fator limitante para a propagação da planta (MILLER et al., 1981). A ocorrência desta doença é mais freqüente durante a propagação de estacas em casa-de-vegetação, tendo como resultado o enfraquecimento, a queda das folhas e finalmente morte da planta inteira (CLARK et al., 1989).

A técnica da cultura de tecidos de *Gypsophila paniculata* tem sido usada principalmente para micropropagação e eliminação de doenças (HENRY, 1993). Alguns poucos trabalhos relativos a micropropagação desta espécie já foram publicados. Entre estes foram utilizados como explante gemas apicais ou axilares (HAN et al., 1991a; ZAMORANO-MENDOZA e MEJIA-MUÑOZ, 1994; SONG et al., 1996; GRIBBLE, 1999; LEE e BAE,

1999b; RADY, 2006) e explantes foliares ou de entrenós (AHRONI et al., 1997; ZUKER et al., 1997; LEE e BAE, 1999a).

O presente estudo teve como objetivo estabelecer um protocolo de multiplicação *in vitro* de *Gypsophila paniculata* a partir de segmentos nodais.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Micropropagação de Plantas e na casa-de-vegetação do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba, Paraná.

O meio básico de cultura utilizado na pesquisa foi o MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) contendo sais minerais, vitaminas e compostos orgânicos. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 antes da adição do ágar. De acordo com o experimento, alíquotas do meio de cultura foram distribuídas em frascos de 30 mL e 250 mL, e tubos de ensaio de 25 x 150 mm. Nos frascos menores e nos tubos de ensaio foram adicionados 10 mL de meio e colocado um explante, enquanto que nos maiores, 25 mL e colocados de 3 a 5 explantes. Os frascos maiores foram vedados com tampas de polipropileno e os demais com papel-alumínio. A esterilização do meio de cultura foi realizada em autoclave, a 120 °C, sob pressão de 1,05 kg cm<sup>-2</sup>, por 20 min. Os frascos com os explantes foram mantidos em sala de crescimento com iluminação artificial fornecida por lâmpadas fluorescentes do tipo "branca fria", de irradiância de 40  $\mu\text{Mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 16 h de fotoperíodo e temperatura de 26  $\pm$  2 °C.

Mudas de *Gypsophila paniculata* L. cv. Golan foram obtidas de produtor comercial, sendo o plantio realizado em recipientes plásticos com capacidade de 5 kg, contendo uma mistura em volumes iguais de solo e areia. As plantas matrizes foram tutoradas e mantidas em casa-de-vegetação por um período de um ano.

Ramos vegetativos foram retirados das plantas matrizes com 8 a 10 cm de comprimento, cortados na base e acondicionados em sacos plásticos que foram vedados e conduzidos ao laboratório. Os ramos foram seccionados em segmentos nodais com 2 cm de comprimento e utilizados como explantes. Os explantes foram isolados em câmara de fluxo laminar. A assepsia externa dos segmentos nodais foi realizada pela imersão em etanol 70%, por 30 segundos, seguida de solução comercial de hipoclorito de sódio 2%, por 10 min e três lavagens em água estéril. Após a assepsia, os segmentos nodais com aproximadamente 2 cm foram transferidos para o meio MS de multiplicação suplementado com reguladores vegetais, cinetina (CIN), ácido naftalenoacético (ANA) e giberelina (GA<sub>3</sub>).

Os explantes foram isolados em câmara de fluxo laminar, sendo colocados 5 explantes por frasco. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com 6 tratamentos em 4 repetições e um

frasco por parcela. Os tratamentos foram:

- 1) Sem reguladores vegetais (testemunha)
- 2) 0,0  $\mu$ M CIN + 3,0  $\mu$ M ANA + 0,3  $\mu$ M GA<sub>3</sub>
- 3) 0,5  $\mu$ M CIN + 0,0  $\mu$ M ANA + 0,3  $\mu$ M GA<sub>3</sub>
- 4) 0,5  $\mu$ M CIN + 3,0  $\mu$ M ANA + 0,3  $\mu$ M GA<sub>3</sub>
- 5) 5,0  $\mu$ M CIN + 0,0  $\mu$ M ANA + 0,3  $\mu$ M GA<sub>3</sub>
- 6) 5,0  $\mu$ M CIN + 3,0  $\mu$ M ANA + 0,3  $\mu$ M GA<sub>3</sub>

Ao final de trinta dias foram avaliadas as seguintes características: calogênese, sobrevivência dos explantes, número de folhas por brotação, comprimento das brotações, massa fresca das brotações, hiperhidricidade, número médio de brotações por explante e sobrevivência das brotações. O comprimento das brotações foi medido a partir da base da brotação até a

extremidade do par de folhas mais jovens, envolvendo o ápice.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Porcentagem de calos formados e porcentagem de sobrevivência

Os resultados de porcentagem de formação de calos e de sobrevivência são apresentados na Tabela 1. As análises de variância para estas variáveis não revelaram significância estatística para o efeito das diferentes concentrações dos reguladores vegetais testados. Os calos formados foram friáveis, com aspecto translúcido e de tamanho variado.

TABELA 1 - Porcentagem de explantes formando calos e porcentagem de sobrevivência dos explantes, número de folhas e comprimento das brotações oriundas dos segmentos nodais de *Gypsophila paniculata* cv. Golan em meio de cultura MS suplementado com diferentes concentrações de reguladores vegetais, após 30 dias de cultivo.

Concentração de reguladores vegetais ( $\mu$ M)			Calos (%)	Sobrevivência (%)	Número de folhas/brotação	Comprimento das brotações (cm)
CIN	ANA	GA <sub>3</sub>				
0,0	0,0	0,0	40,0a	86,8a	6,3 c	4,4 ab
0,0	3,0	0,3	50,0a	71,3a	4,9 c	2,0 b
0,5	0,0	0,3	37,0a	95,0a	13,6 a	5,5 a
0,5	3,0	0,3	41,5a	91,8a	12,0 ab	5,2 a
5,0	0,0	0,3	22,8a	95,0a	8,4 bc	5,2 a
5,0	3,0	0,3	33,3a	91,8a	6,8 c	3,1 ab
C.V. (%)			32,73	17,55	29,17	32,13

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Observou-se que, à medida que se aumentou a concentração de CIN, houve uma tendência de menor formação de calos na base dos explantes. O menor percentual de calos (22,75%) foi obtido com o uso de 5,0  $\mu$ M de CIN combinado com 0,3  $\mu$ M de GA<sub>3</sub> (Tabela 1). Este resultado está de acordo com os de AHRONI et al. (1997) os quais afirmaram haverem reduzido a concentração de auxina a fim de reduzir a formação de calos.

Na Tabela 1 verifica-se que a máxima taxa de sobrevivência de explantes (95,00%) foi obtida nos tratamentos sem auxina e a taxa mais baixa (71,25%) com a adição de 3,0  $\mu$ M de ANA no meio de cultura sem CIN e com 0,3  $\mu$ M de GA<sub>3</sub> embora não diferiram estatisticamente.

### Comprimento das brotações e número de folhas das brotações

A análise de variância revelou diferença significativa para o efeito dos reguladores vegetais sobre o comprimento e número de folhas por brotação.

Os brotos formados em meio de cultura contendo 0,5  $\mu$ M de CIN e 0,3  $\mu$ M de GA<sub>3</sub> na ausência de ANA foram os que apresentaram maior comprimento (5,5 cm), conforme Tabela 1. Entretanto, não diferiram significativamente dos tratamentos nos quais as concentrações dos reguladores foram 0,5  $\mu$ M de CIN, 3,0  $\mu$ M de ANA e 0,3  $\mu$ M de GA<sub>3</sub>, 5,0  $\mu$ M de CIN, 0,0  $\mu$ M de ANA e 0,3  $\mu$ M

de GA<sub>3</sub> e 5,0  $\mu$ M de CIN, 3,0  $\mu$ M de ANA e 0,3  $\mu$ M de GA<sub>3</sub> e da testemunha. RADY (2006) obteve brotações com tamanho variando entre 1,9 e 3,3 cm depois de um mês em meio de cultura contendo 2,7  $\mu$ M de ANA e 1,11 a 8,8  $\mu$ M de benzilaminopurina.

Os resultados do número de folhas das brotações foram semelhantes aos da variável comprimento das brotações. Isto indica a direta relação entre as duas variáveis. Assim sendo, quanto maior o comprimento de uma brotação, maior será o número de entrenós e, conseqüentemente, o maior número de folhas. Conforme a Tabela 1, o tratamento que apresentou melhor efeito sobre o número de folhas foi o meio suplementado com 0,5  $\mu$ M de CIN e 0,3  $\mu$ M de GA<sub>3</sub>, onde se obteve 13,55 folhas por brotação, embora não haja ocorrido diferença significativa com o tratamento de 0,5  $\mu$ M de CIN, 3,0  $\mu$ M de ANA e 0,3  $\mu$ M de GA<sub>3</sub>.

### Massa fresca e porcentagem de hiperhidricidade

Pela análise de variância, constatou-se significância estatística dos tratamentos para a variável massa fresca e não houve diferença para a variável hiperhidricidade. De acordo com os dados apresentados na Tabela 2, observa-se que os resultados dos tratamentos com 0,5  $\mu$ M de CIN e 0,3  $\mu$ M de GA<sub>3</sub> e o tratamento com 0,5  $\mu$ M de CIN, 3,0  $\mu$ M de ANA e 0,3  $\mu$ M de GA<sub>3</sub> não diferiram estatisticamente para a variável massa fresca das brotações e foram

superiores aos resultados dos demais tratamentos. Os melhores resultados obtidos nesses dois tratamentos podem haver sido decorrentes do melhor desenvolvimento das brotações.

A suplementação dos meios de cultura com cinetina em uma concentração elevada influenciou negativamente os valores da variável massa fresca, uma vez que o excesso de citocinina promove uma série de eventos nos explantes como a regeneração de brotações anormais e hiperhídricas (HAN et al., 1992). Segundo PAEK et al. (1991), a hiperhidricidade de brotações de *Gypsophila paniculata* cultivadas *in vitro* pode ser influenciada por muitos fatores, entre os quais a adição de níveis elevados de citocininas no meio de cultura. A hiperhidricidade também pode ser consequência da exposição a baixas irradiâncias luminosas e/ou altas temperaturas (PAEK et al., 1991). Outros autores mostraram que a hiperhidricidade é ligada

à concentração de ágar nos meios de cultura e à razão nitrato:amônio do meio (HAN et al., 1991 a e b). Para GRIBBLE (1999), o controle da umidade relativa do ar no frasco é importante na obtenção de plantas de *Gypsophila* normais, sem sintomas de hiperhidricidade. Neste experimento os fatores luz e temperatura podem haver influenciado a hiperhidricidade das brotações, uma vez que houve períodos de alta temperatura e outros de baixa luminosidade em virtude de problemas nos equipamentos que mantêm as condições ambientais da sala de crescimento. A associação destes fatores levou aos resultados obtidos na Tabela 2 para a variável hiperhidricidade. Embora a análise estatística não revele diferença entre os tratamentos, verifica-se que a concentração de 5,0  $\mu\text{M}$  de CIN na ausência de ANA proporcionou a mais alta taxa de hiperhidricidade (49,5%).

TABELA 2 - Massa fresca das brotações, porcentagem de brotações hiperhídricas, número de brotações e sobrevivência das brotações oriundas dos segmentos nodais de *Gypsophila paniculata* cv. Golan em meio de cultura MS suplementado com diferentes concentrações de reguladores vegetais, após 30 dias de cultivo.

Concentração de reguladores vegetais ( $\mu\text{M}$ )			Massa fresca (mg)	Hiperhidricidade (%)	Número médio de brotações/ explante	Sobrevivência das brotações (%)
CIN	ANA	GA <sub>3</sub>				
0,0	0,0	0,0	259,0bc	41,3a	2,8a	91,8a
0,0	3,0	0,3	210,9 c	33,0a	2,6a	91,8a
0,5	0,0	0,3	328,8a	33,0a	4,7a	91,8a
0,5	3,0	0,3	297,5ab	24,8a	3,9a	100,0a
5,0	0,0	0,3	199,4 c	49,5a	4,1a	75,0a
5,0	3,0	0,3	203,8 c	24,8a	2,8a	66,8a
C.V. (%)			14,59	54,26	40,92	23,47

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

#### Número e sobrevivência das brotações

As análises de variância para o número e a sobrevivência das brotações não indicaram diferenças estatísticas entre os tratamentos (Tabela 2). No presente experimento, as concentrações de citocinina e auxina utilizadas não proporcionaram taxa de multiplicação satisfatória, tendo-se obtido um valor máximo de 4,7 brotações por explante, enquanto que ZAMORANO-MENDOZA e MEJIA-MUÑOZ (1994) obtiveram oito brotos por explante, cultivando ápices caulinares de *Gypsophila paniculata* em meio de cultura contendo 2,85  $\mu\text{M}$  de AIA e 13,3  $\mu\text{M}$  de BAP sem GA<sub>3</sub>. RADY (2006) obteve 4,2 brotos por segmento apical na presença de 2,7  $\mu\text{M}$  de ANA e 2,2  $\mu\text{M}$  de BAP.

Os melhores resultados obtidos neste experimento (4,7 brotos por explante) são semelhantes aos encontrados por KUSEY et al. (1980), de 4,9 brotos por explante, utilizando como explantes ápices caulinares de *Gypsophila paniculata*. Apesar de o ANA ser bastante utilizado na multiplicação de explantes, o uso de AIA tem mostrado ser mais eficiente para esta espécie conforme atestam HAN et al. (1991a;1991b;1992; 1995; 1996a; 1996b) e SONG et al. (1996). Portanto, nas condições estabelecidas, são necessários

novos testes empregando esta auxina e maiores concentrações de citocinina, a fim de aumentar o número de brotações.

Embora não haja ocorrido diferença significativa entre os tratamentos, observa-se que a aplicação de 0,5  $\mu\text{M}$  de CIN com 3,0  $\mu\text{M}$  de ANA e 0,3  $\mu\text{M}$  de GA<sub>3</sub> ao meio de cultura proporciona 100% de sobrevivência das brotações.

#### CONCLUSÕES

A análise e interpretação dos resultados obtidos nas condições em que o experimento foi conduzido permitem concluir que:

A *Gypsophila paniculata* é uma planta ornamental de fácil multiplicação *in vitro* e apresenta alta porcentagem de sobrevivência. A adição da auxina ANA ao meio de cultura aumenta a formação de calos e diminui a hiperhidricidade.

Os melhores resultados de micropropagação foram obtidos em meio MS contendo 0,5  $\mu\text{M}$  de CIN e 0,3  $\mu\text{M}$  de GA<sub>3</sub> com 95% de sobrevivência dos segmentos nodais, 13,55 folhas por explante, brotações de 5,50 cm de comprimento, massa fresca com 328,82 mg e 4,65 brotações por explante.

## REFERÊNCIAS

1. AHRONI, A.; ZUKER, A.; ROZEN, Y.; SHEJTMAN, H.; VAINSTEIN, A. An efficient method for adventitious shoot regeneration from stem-segment explants of gypsophila. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 49, n. 2, p. 101-106, 1997.
2. ARTEAGA, A.D.; AMEZQUITA, M.O. Efecto de la zona de localizacion del esqueje en la planta madre, sobre el enraizamiento de *Gypsophila paniculata* L. **Agronomia Colombiana**, v. 47, p. 4-53, 1990a.
3. ARTEAGA, A.D.; AMEZQUITA, M.O. Respuestas de crecimiento y desarrollo en *Gypsophila paniculata* en la ubicacion de los esquejes en la planta madre y a tratamientos con bajas temperaturas. **Agronomia Colombiana**, v. 7, p. 54-60, 1990b.
4. BARROSO, G.M. Família Caryophyllaceae Lindl. In: BARROSO, G.M. **Sistemática das Angiospermas do Brasil**. São Paulo: EDUSP, 1978. v. 1. p. 103-108.
5. CASTRO, C.E.F. Cadeia produtiva de flores e plantas ornamentas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 4, n. 1-2, p. 1-46, 1998.
6. CLARK, E., VIGODSKI-HASS, H.; GAFNI, Y. Characterization in tissue culture of hyperplasias induced by *Erwinia herbicola* pathovar *gypsophilae*. **Physiology and Molecular Plant Pathology**, v. 35, p. 383-390, 1989.
7. COOKSEY, D.A. Galls of *Gypsophila paniculata* caused by *Erwinia herbicola* pathovar *gypsophilae*. **Plant Disease**, v. 70, p. 464-468, 1986.
8. GEMTCHUJNICOV, I.D. Família Cariophilaceae Lindl. In: GEMTCHUJNICOV, I.D. **Manual de taxonomia vegetal**. São Paulo: Ceres, 1976. v. 1. p. 228-230.
9. GRIBBLE, K. The influence of relative humidity on vitrification, growth and morphology of *Gypsophila paniculata* L. **Plant Growth Regulation**, v. 27, p. 179-188, 1999.
10. HAN, B.H.; PAEK, K.Y.; CHOI, J.K. Micropropagation of *Gypsophila paniculata* through shooty tip culture *in vitro*. **Journal of Korean Society for Horticultural Science**, v. 32, n. 3, p. 394-400, 1991a.
11. HAN, B.H.; PAEK, K.Y.; CHOI, J.K. Prevention of vitrification of *Gypsophila paniculata* regenerated *in vitro*. **Journal of Korean Society for Horticultural Science**, v. 32, n. 4, p. 518-524, 1991b.
12. HAN, B.H.; PAEK, K.Y.; CHOI, J.K. Structural characteristics of vitrified and glaucous plantlets in *Gypsophila paniculata* L. *in vitro*. **Journal of Korean Society for Horticultural Science**, v. 33, n. 2, p.177-189, 1992.
13. HAN, B.H.; JOUNG,H.Y.; CHOI,J.K.; PAEK,K.Y. Effects of sealing materials and relative humidity of culture vessels on growth vitrification and nutrient contents *in vitro* plantlets of *Gypsophila paniculata* L. 'Bristol Fairy'. **Journal of Korean Society for Horticultural Science**, v. 36, n. 6, p. 886-892, 1995.
14. HAN, B.H.; JOUNG, H.Y.; CHOI, J.K.; PAEK, K.Y. Effects of different sealing materials on CO<sub>2</sub> and ethylene concentration in culture vessel, and growth and vitrification of *Gypsophila paniculata* L. 'Bristol Fairy'. **Journal of Korean Society for Horticultural Science**, v. 37, n. 1,p. 118-122, 1996a.
15. HAN, S.; QI, L.; WEI, Y.; YANG, Y.; ZHANG, Y. Tissue culture and *in vitro* propagation of *Gypsophila paniculata*. **Acta Horticulturae Sinica**, v. 23, n. 2, p. 175-178, 1996b.
16. HENRY, M. *Gypsophila paniculata* L. (Baby's breath): *in vitro* culture and production of gypsogenin saponins. In: BAJAJ, Y.P.S. (Ed.) **Biotechnology in agriculture and forestry. Vol. 21. Medicinal and aromatic plants**. Berlin: Springer Verlag 1993. p. 187-206.
17. INFOAGRO. **El cultivo de la Gypsophila**. Disponível em <<http://infoagro.com/flores/flores/gypsophila>> Acesso em 09 de out. 2002.
18. KUSEY, W.E.; HAMMER, P.A.; WEILER, T.C. *In vitro* propagation of *Gypsophila paniculata* L. 'Bristol Fairy'. **HortScience**, v. 15, n. 5, p. 600-601, 1980.
19. LEE, S.W.; BAE, J.J. *In vitro* regeneration using leaf segments in *Gypsophila paniculata* L. Bristol Fairy. **Korean Journal of Horticultural Science and Technology**, v. 17, p. 765-767, 1999a.
20. LEE, S.W.; BAE, J.J. Improvement of efficiency for multiplication of vigorous seedlings by shoot cultured *in vitro* in *Gypsophila paniculata* L. Bristol Fairy. **Korean Journal of Horticultural Science and Technology**, v. 17, p. 768-769, 1999b.
21. MILLER, H.J.; QUIN, C.E.; GRAHAM D.C. A strain of *Erwinia herbicola* pathogenic on *Gypsophila paniculata*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 87, p. 167-172, 1981.
22. MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tabaco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.
23. PAEK, K.Y.; HAN, B.H.; CHOI, S.L. Physiological, biochemical and morphological characteristics of vitrification shoot regenerated *in vitro*. **Korean Journal of Plant Tissue Culture**, v. 18, n. 3, p. 151-162, 1991.
24. RADY, M.R. *In vitro* culture of *Gypsophila paniculata* L. and random amplified polymorphic DNA analysis of the micropropagated plants. **Biologia Plantarum**, v. 50, p. 507-513, 2006.
25. SHILLO R.; HALEVY, A.H. Interaction of photoperiod and temperature in flowering-control of *Gypsophila paniculata* L. **Scientia Horticulturae**, v. 16, p. 385-393, 1985.
26. SONG, RH; LU, JP; ZHOU, XG. Rapid propagation of *Gypsophila paniculata* L. by tissue culture. **Acta Agriculture Shanghai**, v. 12, n. 3, p. 71-73, 1996.
27. ZAMORANO-MENDOZA, J.J.Z.; MEJIA-MUÑOZ, J.M.M. *In vitro* propagation of gypsophila (*Gypsophila paniculata* L.) cv. Perfecta). **Revista Chapingo, Serie Horticultura**, v. 1, p. 67-71, 1994.
28. ZUKER, A.; AHRONI, A.; SHEJTMAN, H.; VAINSTEIN, A. Adventitious shoot regeneration from leaf explants of *Gypsophila paniculata* L. **Plant Cell Reports**, v. 6, n. 11, p. 775-778, 1997.

Recebido em 18/12/2006

Aceito em 13/12/2007



