



IPEF: FILOSOFIA DE TRABALHO DE UMA ELITE DE EMPRESAS FLORESTAIS BRASILEIRAS

ISSN 0100-3453

CIRCULAR TÉCNICA Nº 69

SETEMBRO/79

PBP/1.10.1.2

PRODUÇÃO DE MUDAS DE ESSÊNCIAS FLORESTAIS EM TUBO DE ENSAIO

Gilmar Bertoloti*
Antonio Natal Gonçalves**

1. INTRODUÇÃO

A produção de mudas em tubo de ensaio (micropropagação) é uma alternativa, cujos resultados obtidos experimentalmente prevêm a sua utilização em escala comercial, desde que, para uma determinada espécie, haja uma metodologia pré-estabelecida.

As pesquisas básicas nesse sentido foram iniciadas na década de 50, e os principais resultados positivos de mudas de essências florestais (*Eucalyptus citriodora*) ocorrem em 1969. A partir de 1970, grande quantidade de trabalhos de pesquisa foi desenvolvida na tentativa de solucionar problemas básicos e de propor novas alternativas para a propagação vegetativa de essências florestais.

2. ALGUMAS CONSIDERAÇÕES SOBRE O MÉTODO

A micropropagação baseia-se na obtenção de plântulas, em tubo de ensaio, a partir de órgãos ou células, tais como: meristema apical, folhas, câmbio, raiz, caulículo, botões florais, cotilédones, hipocótilo, pólen, óvulo, etc.

Vale salientar que, para cada tipo de célula, há a necessidade de se empregar um meio de cultura específico (substrato), que contenha, adequadamente, os nutrientes e agentes indutores necessários ao desenvolvimento das células. Esta, por sua vez, são

* Bolsista do IPEF e Quartanista do CEF-ESALQ-USP.

** Professor do Departamento de Silvicultura da ESALQ.

influenciadas sobre maneira pela luz (intensidade e qualidade), temperatura, estágio fisiológico, e época para colheita do material a ser propagado.

2.1. Metodologia utilizada

O material a ser propagado é trazido ao laboratório e, em seguida, seccionado em partes menores, colocado em solução de anti-oxidante, com o objetivo de evitar o escurecimento. Posteriormente é mergulhado em solução de hipoclorito para ser esterilizado.

Dependendo da espécie, a imersão em solução anti-oxidante pode ser substituída pela simples lavagem com água corrente, a qual também evita, com sucesso, a oxidação fenólica (escurecimento) dos propágulos.

Em condições assépticas, efetua-se um novo corte do material em “Placas de Petri” e, posteriormente, efetua-se a inoculação em meios de cultura contidos em tubos de ensaio, os quais foram previamente esterilizados em autoclave.

Esses meios de cultura possuem fitohormônios, que induzem os tecidos não diferenciados, denominados “calos”, a se desenvolverem, originando uma planta completa. Contém ainda nutrientes básicos (aminoácidos, sacarose, inositol, agar e outros) que oferecem às plântulas condições básicas necessárias para o seu crescimento.

A temperatura é mantida a uma faixa de 26-28°C, e o período de luminosidade varia com a espécie, sendo mais comumente indicada a iluminação (1000 LUX) durante 16 horas.

3. VANTAGENS DO MÉTODO

O fator de multiplicidade apresentado pela micropropagação traz ao método algumas vantagens sobre os demais meios de propagação vegetativa, pois a partir de uma pequena quantidade de material inicial pode-se obter em laboratório uma infinidade de plântulas com as mesmas características genéticas da planta mãe, que produzidas em viveiro ocupariam um espaço maior.

Nos programas de produção de sementes, essa alternativa apresentada é fator de primordial importância, pois possibilita a instalação de pomares de sementes com os genótipos desejáveis em um período de tempo relativamente curto, quando comparado aos métodos convencionais.

Os problemas com agentes patogênicos encontrados em muitas espécies florestais, como o cancro no eucalipto, podem ser minimizados utilizando-se as técnicas de microenxertia, da cultura de meristemas e da apomixia, as quais possuem a característica de propagar tecidos isentos de doenças, que assegura o potencial genético das espécies.

Outra grande vantagem é a perpetuação de espécies vegetais em extinção, bem como a utilização de árvores matrizes em programas de melhoramento genético.

Poderão ser formados bancos de germoplasmas que constituirão uma reserva de material genético importante, sendo guardados durante alguns anos e posteriormente utilizados.

4. AS LIMITAÇÕES DO MÉTODO

Um dos principais problemas apresentados por esse método é observado nas espécies que não possuem a capacidade de se regenerar e se multiplicar a partir de

segmentos de plantas. É sabido que muitas espécies não possuem esta habilidade, requerendo meios de propagação sexuadas para que haja a produção de sementes viáveis.

A dificuldade de se encontrar a quantidade exata do fitohormônios que estimulem a formação de brotos e raízes, bem como os nutrientes básicos para o desenvolvimento das plântulas, é fator limitante deste método, causando uma demora na propagação de certas espécies.

Os custos iniciais, tanto para a aquisição dos equipamentos de laboratório como para a importação de certos produtos químicos, podem interferir negativamente no programa de produção de mudas em grande escala.

Outra dificuldade apresentada é a transferência das mudas, das condições de laboratório (condições ideais) para as condições de campo (variação de luz, temperatura e umidade). Para solucionar este problema, deve-se efetuar uma rustificação gradativa das mudas, ainda em fase de laboratório.

5. ESTÁGIO ATUAL DAS PESQUISAS

Até agora, de uma forma geral, os problemas básicos encontrados foram a falta de informações quanto aos mecanismos de regulação no controle de crescimento e desenvolvimento das árvores e a heterogeneidade de comportamento das espécies.

Atualmente já existem alternativas comprovadamente viáveis e alternativas altamente produtivas com resultados que merecem melhor atenção na análise. Estas últimas buscam uma maior produtividade, mas a heterogeneidade genética deve ser cuidadosamente avaliada.

A maior parte dos trabalhos de pesquisa deste setor tem sido efetuado com material vegetativo juvenil, e, em florestas, as árvores a serem propagadas não se encontram nessa fase de desenvolvimento. Uma das prioridades nesse sentido é a reversão à juvenilidade.

No Departamento de Silvicultura da ESALQ-USP, as pesquisas da micropropagação tem sido voltadas para o trabalho com material vegetativo adulto, conseqüente rejuvenescimento, propagação e manutenção da homogeneidade genética das plantas propagadas. Como resultado da orientação da pesquisa nesse sentido, já existe metodologia de rejuvenescimento “in vitro” e conseqüente propagação. Das alternativas propostas para a micropropagação de essências florestais no Departamento de Silvicultura – ESALQ, é a cultura nodal (micro-estaquia) a mais indicada.

6. AS PROJEÇÕES FUTURAS DA MICROPROPAGAÇÃO

Pelo fato da micropropagação ser uma técnica recente na produção de mudas com genótipo conhecido, atualmente não é fornecido grande suporte técnico-financeiro, por parte das entidades, aos pesquisadores desta área. Porém, com a divulgação de resultados que comprovem a eficiência e importância do método, maiores incentivos poderão ser conseguidos para os programas desta natureza.

Com a obtenção de aparelhagem de menores custos, os problemas técnicos, concernentes às espécies que não conseguiram ser propagadas pelos outros meios, poderão ser solucionados, para que haja uma produção, em ritmo acelerado, de mudas de essências florestais.

Com crescente implantação de maciços florestais homogêneos, há a necessidade de se “proteger” determinadas populações que, por ventura, possam ser atacadas por fungos, bactérias ou vírus patogênicos. É nesta fase que a micropropagação tem função importante,

pois através dela poderá ser feita a propagação de árvores ainda não atacadas ou até mesmo fazer a recuperação de determinados genótipos infestados.

Os problemas de proteção do material vegetativo pelo sistema de quarentena poderá ser evitado, quando se trabalha com propágulos cujo controle de sanidade seja completo, ou seja, totalmente isento de qualquer patógeno.

Será indispensável em todo o processo de propagação, a formação dos bancos de germoplasmas, os quais constituirão uma reserva de material genético importante, de onde poderão ser retirados propágulos em grande escala para os futuros programas de melhoramento.

Bancos clonais já instalados pelo método de enxertia é outro ponto que merece receber uma análise mais criteriosa, para que se possa produzir em escala comercial, através da micropropagação, material genético conhecido, dos clones que apresentaram problemas de incompatibilidade entre enxerto e porta enxerto.

Sendo assim, deverão ser intensificadas as pesquisas nas espécies e árvores que, por qualquer motivo, tiveram problemas em sua propagação, seja ela pelo método sexuado ou assexuado. Com isto tenderão a se esgotar todas as possibilidades de aumentar a quantidade de material, originados de árvores superiores que, pelas suas boas características silviculturais, foram selecionadas em programas anteriores.

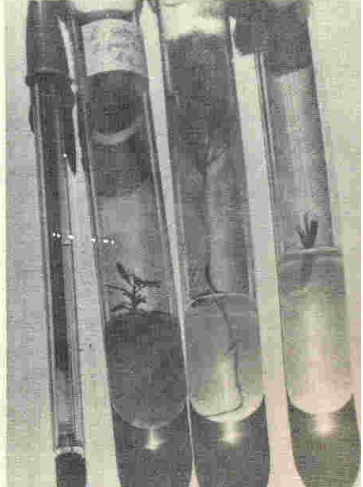
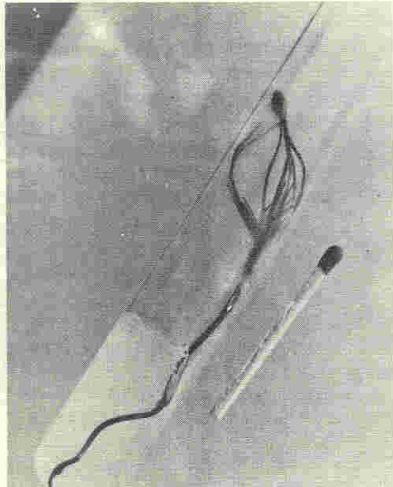
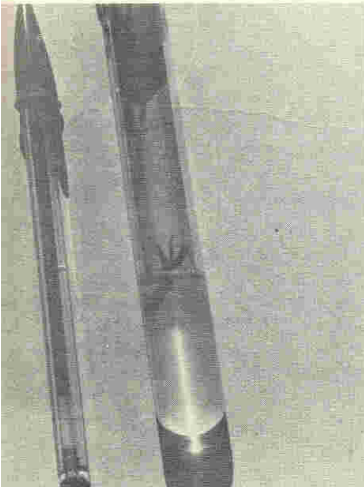
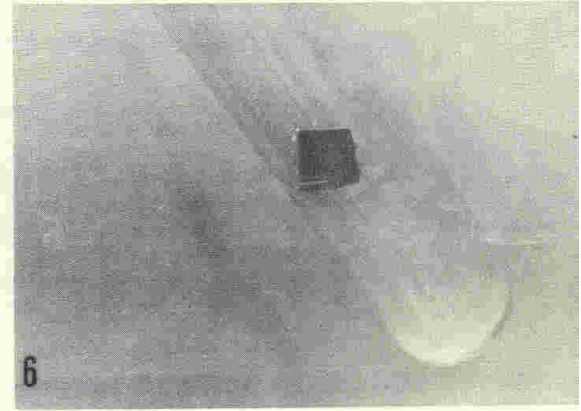
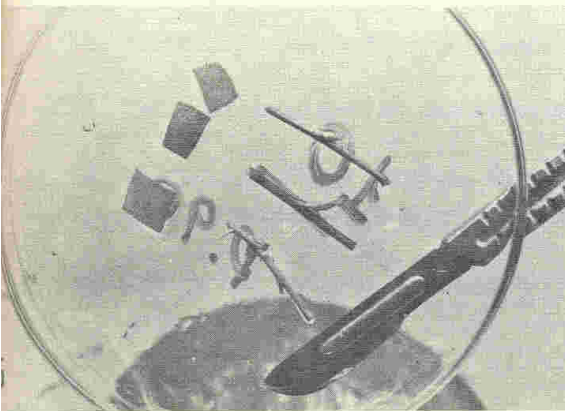
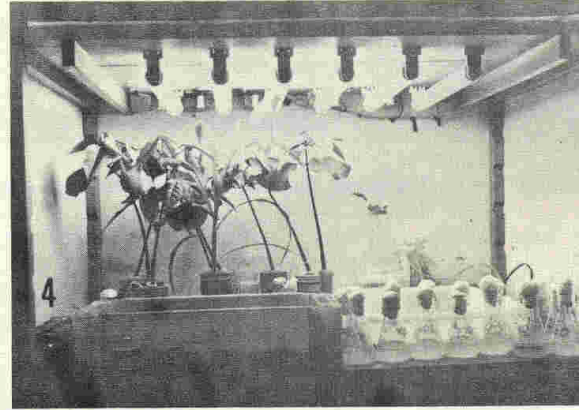
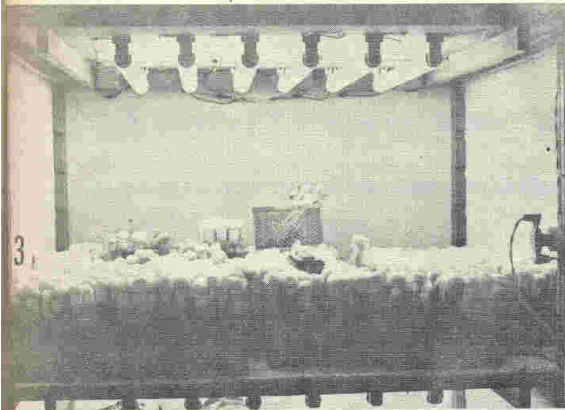
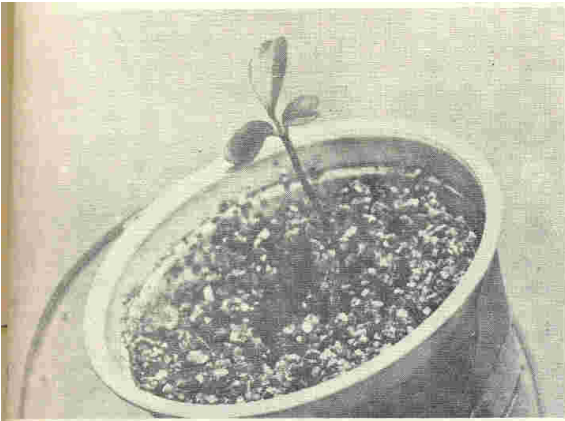
Paralelamente a esses estudos, a pesquisa no Setor de Fisiologia das Árvores, no que diz respeito aos mecanismos de regulação do controle de crescimento e de desenvolvimento das árvores, deverá receber especial atenção, pois constitui ponto de partida para propagação de qualquer espécie vegetal.

7. PREVISÃO DE CUSTOS

Uma forma de estimar e calcular os custos para a propagação de essências florestais ainda não foi elaborada, apesar de ser uma consideração importante na procura comercial. As informações apresentadas foram coletadas no laboratório do Setor de Fisiologia das Árvores do Depto. de silvicultura da ESALQ/USP. Estes cálculos foram estimados até a fase de enraizamento das gemas no tubo de ensaio, para a produção de 1.000.000 (um milhão) de mudas de eucalipto/ano, visando a alternativa da micro-estaquia para rejuvenescimento, multiplicação de gemas e enraizamento.

QUADRO I. Estimativa de custos para a produção de 1.000.000 (hum milhão) de mudas de eucalipto por ano através da micro-estaquia.

	Cr\$
A. Pessoal	
1. Técnico 18.720 h (Cr\$ 50,00/h incluindo 40% encargos sociais)	936.00,00
2. Supervisor 2.080 h (Cr\$ 323,00, incluindo 40% encargos sociais)	672.000,00
Sub total	1.608.000,00
B. Custos de meio de cultura (substrato)	500.000,00
C. Custos de vidraria e outros acessórios (Cr\$ 1.000.000,00/2 anos, a 36%/ano)	680.000,00
D. Equipamentos e laboratórios	
1. Equipamentos (1.000.000,00/10 anos, a 36%/ano)	136.000,00
2. Laboratório (2.000.000,00/10 anos, a 36%/ano)	272.000,00
Sub total	408.000,00
Total parcial	3.196.000,00
E. Administração (30% do total parcial)	958.800,00
Total	4.154.800,00



Anexo 1. Relação de fotos contidas na página anterior

1. Transplante da muda do tubo de ensaio para o recipiente (“repicagem”).
2. À esquerda: material de *Pinus caribaea* var. *caribaea*, testando metodologia de inoculação.
À direita: transplante de muda produzida em tubo de ensaio.
3. Níveis adequados de luminosidade para o desenvolvimento de propágulos em tubos de ensaio.
4. À direita: material recém-inoculado.
À esquerda: material em estágio de crescimento.
5. Ramos e folhas sendo preparados para a inoculação.
6. Parte da folha em tubo de ensaio para emissão de brotos e raízes.
7. Gemas de eucalipto em desenvolvimento, na fase de laboratório.
8. Plântula de *Pinus caribaea* var. *caribaea* para clonagem (aumentar o número de propágulos a partir de pequena quantidade de material).
9. Diferentes estágios de desenvolvimento dos propágulos em tubo de ensaio.

Esta publicação é editada pelo Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, convênio Departamento de Silvicultura da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo.

É proibida a reprodução total ou parcial dos artigos publicados nesta circular, sem autorização da comissão editorial.

Periodicidade – irregular

Permuta com publicações florestais

Endereço:

IPEF – Biblioteca
ESALQ-USP
Caixa Postal, 9
Fone: 33-2080
13.400 – Piracicaba – SP
Brasil

Comissão Editorial da publicação do IPEF:

MARIALICE METZKER POGGIANI – Bibliotecária
WALTER SALES JACOB
COMISSÃO DE PESQUISA DO DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA –
ESALQ-USP
DR. HILTON THADEU ZARATE DO COUTO
DR. JOÃO WALTER SIMÕES
DR. MÁRIO FERREIRA

Diretoria do IPEF:

Diretor Científico – JOÃO WALTER SIMÕES
Diretor Técnico – HELLÁDIO DO AMARAL MELLO
Diretor Administrativo – NELSO BARBOZA LEITE

Responsável por Divulgação e Integração – IPEF

José Elidney Pinto Junior