



Alongamento *in vitro* de *Eucalyptus urophylla*

Danielle Cristine dos Santos¹
Ivar Wendling²
Leonardo Ferreira Dutra³
Luiz Carlos Fracaro⁴

A micropropagação é uma técnica que oferece excelentes possibilidades para propagação comercial de plantas, possibilitando a obtenção de grande número de indivíduos a partir de poucas matrizes, em curto espaço de tempo e em reduzida área de laboratório (BONGA & ADERKAS, 1992). Pode também auxiliar na antecipação de resultados de programas de melhoramento (PAIVA & GOMES, 1995; XAVIER & COMÉRIO, 1997). De acordo com Bonga & Aderkas (1992) e Xavier & Wendling (1998), o uso da micropropagação na produção comercial de mudas de espécies florestais ainda não se justificou técnica e economicamente. Em contrapartida Ratnieks & Assis (1993) recomendam sua utilização para espécies e híbridos de *Eucalyptus* de alto valor comercial e de difícil enraizamento.

O sucesso na propagação de material adulto de várias espécies de *Eucalyptus* indica que a micropropagação pode ser usada para o rejuvenescimento de material adulto (BONGA & ADERKAS, 1992; ELDRIDGE et al. 1994; GUIMARÃES et al. 1997; XAVIER et al. 1997). A micropropagação de *Eucalyptus*, atualmente, tem sido utilizada no rejuvenescimento de clones, visando à

formação de jardim microclonal, para produção de microestacas (TITON, 2001).

Com o advento da microestaquia, esta técnica tem merecido especial atenção, visando à formação de jardins microclonais, os quais constituem a base para o processo de microestaquia de *Eucalyptus*.

O objetivo deste trabalho foi testar diferentes reguladores de crescimento e suas combinações no alongamento de explantes de *Eucalyptus urophylla* oriundos de 25 subcultivos.

Segmentos nodais de 1 a 3 cm oriundos de mudas produzidas via semente foram desinfestados com solução contendo 1g L⁻¹ de Benlate (Benomil) por 15', solução de NaClO 1% acrescida de 2 gotas de Twenn 20 por 15' e lavados três vezes com água destilada e autoclavada. Posteriormente, os explantes foram introduzidos em meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) acrescido de 3,0% de sacarose e 0,7% de ágar, onde permaneceram durante 30 dias. Uma vez estabelecidos, os explantes foram subcultivados 25 vezes em meio de cultura JADS

¹ Estagiária. Curso de Química do Centro de Educação Profissional (CEEP).

² Engenheiro Florestal, Doutor, Pesquisador da *Embrapa Florestas*. ivar@cnpf.embrapa.br

³ Engenheiro-Agrônomo, Doutor, Pesquisador da *Embrapa Florestas*. leo@cnpf.embrapa.br

⁴ Auxiliar do laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da *Embrapa Florestas*.

modificado (CORREIA, 1993), contendo $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ de BAP e $0,1 \text{ mgL}^{-1}$ de AIA, para multiplicação do material.

Após multiplicados, os explantes foram inoculados em frascos tipo Bioplanta contendo 50 ml de meio de cultura constituído dos sais básicos de JADS modificado, acrescido de 2,5% sacarose e 0,7% de ágar, com pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, contendo os seguintes tratamentos: T1 - 1 mgL^{-1} de GA_3 (ácido giberélico); T2 - $1,2 \text{ mgL}^{-1}$ de AIA (ácido indolacético) + $0,08 \text{ mgL}^{-1}$ de BAP (6-benzilaminopurina) + 5 mgL^{-1} de Tiamina HCl; T3 - $0,1 \text{ mgL}^{-1}$ de AIB (ácido indolbutírico) + $0,1 \text{ mgL}^{-1}$ de BAP e; T4 - $0,1 \text{ mgL}^{-1}$ de ANA (ácido naftalenoacético) + $0,05 \text{ mgL}^{-1}$ de BAP. Posteriormente foram transferidos para sala de crescimento sob fotoperíodo de 16 horas a $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e luminância de 4000 lux.

Foi utilizado delineamento experimental inteiramente casualizado com seis repetições de cinco explantes cada uma.

Decorridos 30 dias da inoculação, foram avaliados número de brotações, altura e peso das plântulas e o número de brotações mortas.

Após a avaliação, os explantes alongados *in vitro* (com aproximadamente 1,5 cm de comprimento) foram transferidos para tubetes plásticos (55 cm^3) contendo substrato formado pela mistura de 35% de casca de arroz carbonizada, 35% de vermiculita fina e 30% de plantmax[®] e mantidos em casa de vegetação, com umidade relativa do ar acima de 80% e temperaturas entre 22 a $28 \text{ }^\circ\text{C}$.

As mudas permaneceram durante 15 dias em condições da casa-de-vegetação avaliando-se a taxa de sobrevivência.

Maior número de brotações foi obtido quando aplicaram-se os tratamentos 3 ($0,1 \text{ mgL}^{-1}$ de AIB + $0,1 \text{ mgL}^{-1}$ de BAP) e 4 ($0,1 \text{ mgL}^{-1}$ de ANA + $0,05 \text{ mgL}^{-1}$ de BAP), sem diferença significativa para o tratamento 2 ($1,2 \text{ mgL}^{-1}$ de AIA + $0,08 \text{ mgL}^{-1}$ de BAP + 5 mgL^{-1} de Tiamina HCl) (Figura 1A). Desses tratamentos, pode-se sugerir a

utilização do tratamento 4, visto que neste utilizou-se menor concentração de BAP e sem Tiamina HCl.

Com relação à altura de plântulas, os melhores resultados foram observados nos tratamentos 2 ($1,2 \text{ mgL}^{-1}$ de AIA + $0,08 \text{ mgL}^{-1}$ de BAP + 5 mgL^{-1} de Tiamina HCl) e 3 ($0,1 \text{ mgL}^{-1}$ de AIB + $0,1 \text{ mgL}^{-1}$ de BAP) (Figura 1B), sendo que o primeiro proporcionou obtenção de plântulas com 1 cm a mais de altura do que o segundo.

Maiores pesos de plântulas foram obtidos naquelas submetidas aos tratamentos 2 ($1,2 \text{ mgL}^{-1}$ de AIA + $0,08 \text{ mgL}^{-1}$ de BAP + 5 mgL^{-1} de Tiamina HCl), 3 ($0,1 \text{ mgL}^{-1}$ de AIB + $0,1 \text{ mgL}^{-1}$ de BAP) e 4 ($0,1 \text{ mgL}^{-1}$ de ANA + $0,05 \text{ mgL}^{-1}$ de BAP) (Figura 2A). Já maior número de brotações mortas foi observado no meio de cultura que continha 1 mgL^{-1} de GA_3 (tratamento 1), enquanto a menor mortalidade ocorreu nos tratamentos 3 e 4 (Figura 2B).

Para a variável número de raízes não houve diferença significativa entre os tratamentos (Figura 3). Entretanto, observou-se que o tratamento 2, 3 e 4 proporcionaram maior número de raízes do que o tratamento 1, visto que possuíam em sua composição as auxinas AIA, AIB e ANA, respectivamente.

Os melhores resultados na micropropagação de *E. urophylla* foram obtidos com a combinação entre auxinas e citocininas. Esse resultado está de acordo com Pasqual (2001), o qual reporta que a morfogênese *in vitro* requer um adequado balanço entre auxinas e citocininas. Diversos trabalhos com o gênero *Eucalyptus* também corroboram essa afirmação (SITA & RANI, 1985; BURGER, 1987; CARVALHO, 1988; DAS & MITRA, 1990; WARRAG et al. 1990; LE ROUX & STADEN, 1991; BLOMSTED et al. 1991; CHANG et al. 1992; YANG et al. 1995).

As plântulas submetidas ao tratamento 1 não sobreviveram, enquanto as dos tratamentos 2, 3 e 4 apresentaram 50; 87,5 e 80% de sobrevivência, respectivamente, durante a aclimatização em casa-de-vegetação, demonstrando que, com pequenos ajustes, altas taxas de sobrevivência poderão ser obtidas.

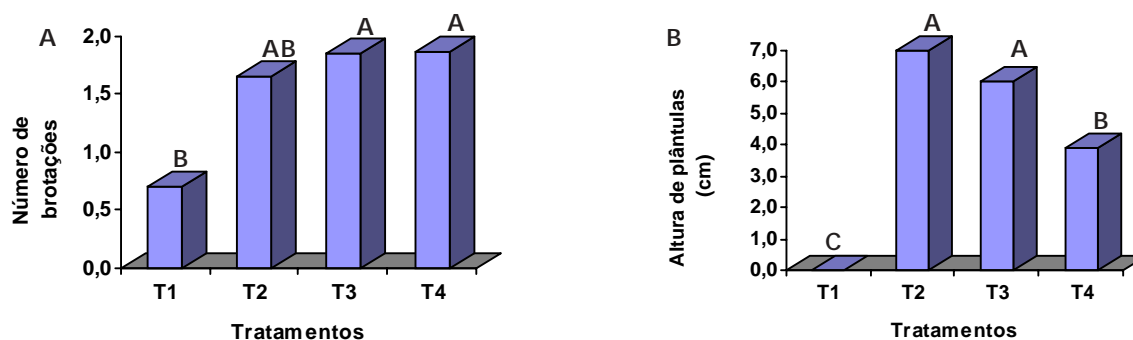


Figura 1. Número de brotações (A) e altura de plântulas (B) de *Eucalyptus urophylla* tratadas com diferentes reguladores de crescimento. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

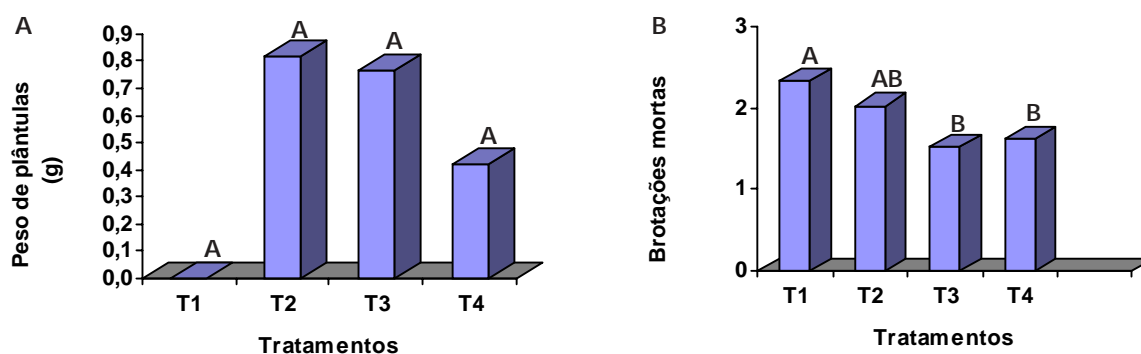


Figura 2. Peso de plântulas (A) e brotações mortas (B) de *Eucalyptus urophylla* tratadas com diferentes reguladores de crescimento. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

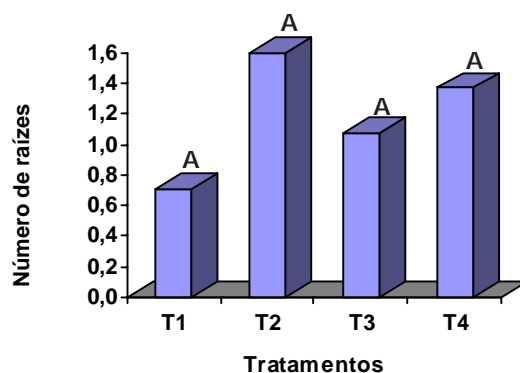


Figura 3. Número de raízes em plântulas de *Eucalyptus urophylla* tratadas com diferentes reguladores de crescimento. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

Conclusão

Nas variáveis mais importantes visando o alongamento, número de brotações, altura e peso de plântulas, as melhores respostas foram obtidas nos tratamentos 2 (1,2 mgL⁻¹ de AIA + 0,08 mgL⁻¹ de BAP + 5 mgL⁻¹ de Tiamina HCl) e 3 (0,1 mgL⁻¹ de AIB + 0,1 mgL⁻¹ de BAP).

Referências bibliográficas

BLOMSTED, C.; CAMERON, J.; WHITEMAN, P.; CHANDLER, S. F. Micropropagation of juvenile *Eucalyptus regnans* (Mountain ash). *Australian Journal of Botany*, v. 39, n. 2, p. 179-186, 1991.

BONGA, J. M.; ADERKAS, P. von. *In vitro culture of trees*. Netherlands: Kluwer Academic Publ., 1992. 236 p.

BURGER, D. W. In vitro micropropagation of *Eucalyptus sideroxylon*. *HortScience*, v. 22, n. 3, p. 496-497, 1987.

CARVALHO, D. de. *Micropropagação de Eucalyptus grandis Hill ex Maiden através da cultura "in vitro" de segmentos nodais*. 1988. 75 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CHANG, S. H.; DONALD, D. G. M.; JACOBS, G. Micropropagation of *Eucalyptus radiata* spp. *Radiata* using explants from mature and coppice material. *South African Forestry Journal*, n. 162, p. 43-47, 1992.

CORREIA, D. *Crescimento e desenvolvimento de gemas na multiplicação de Eucalyptus spp. in vitro em meio de cultura líquido e sólido*. 1993. 113 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

DAS, T.; MITRA, G. C. Micropropagation of *Eucalyptus tereticornis* Smith. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 22, n. 2, p. 95-104, 1990.

ELDRIDGE, K.; DAVIDSON, J.; HARDWIID, C.; VANWYK, G. **Eucalypt domestication and breeding**. Oxford: Clarendon Press, 1994. p. 228-246.

GUIMARÃES, M. P.; CORREIA, F.; COUCELO, F. Integração de um laboratório de micropropagação de *Eucalyptus globulus* no viveiro de uma empresa do sector papeleiro português. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPTS, 1997, Salvador. **Proceedings...** Colombo: EMBRAPA-CNPq, v. 2, 1997. p. 79.

LE ROUX, J. J.; STADEN, J. van. micropropagation of *Eucalyptus* species. **HortScience**, v. 26, n. 2, p. 199-200, 1991.

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

PAIVA, H. N.; GOMES, J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1995. 40 p. (UFV. Boletim, 322).

PASQUAL, M. **Cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações: meios de cultura**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001. 74 p.

RATNIEKS, E.; ASSIS, T. F. O que há adiante da árvore? **O papel**, v. 54, n. 1, p. 41-48, 1993.

SITA, G. L.; RANI, B. S. In vitro propagation of *Eucalyptus grandis* L. by tissue culture. **Plant Cell Reports**, v. 4, p. 63-65, 1985.

TITON, M. **Propagação clonal de *Eucalyptus grandis* por miniestaquia e microestaquia**. 2001. 65 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

WARRAG, E.; LESNEY, M. S.; ROCKWOOD, D. J. Micropropagation of field tested superior *Eucalyptus grandis* hybrids. **New Forests**, v. 4, n. 2, p. 67-79, 1990.

XAVIER, A.; COMÉRIO, J. Enraizamento *ex vitro* de gemas de *Eucalyptus* spp. multiplicadas e alongadas *in vitro*. **Scientia Forestalis**, n. 51, p. 29-36, 1997.

XAVIER, A.; COMÉRIO, J.; IANNELLI, C. M. Eficiência da microestaquia e da micropropagação na clonagem de *Eucalyptus* spp. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPTS, 1997, Salvador. **Proceedings...** Colombo: EMBRAPA-CNPq, v. 2, 1997. p. 40-45.

XAVIER, A.; WENDLING, I. **Miniestaquia na clonagem de *Eucalyptus***. Viçosa: SIF, 1998. 12 p. (Informativo Técnico SIF, 12).

YANG, J. C.; CHUNG, J. D.; CHEN, Z. Z. Vegetative propagation of adult *Eucalyptus grandis* x *urophylla* and comparison of growth between micropropagated plantlets and rooted cuttings. **Plant Cell Reports**, v. 15, p. 170-173, 1995.

Comunicado Técnico, 120

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na: **Embrapa Florestas**

Endereço: Estrada da Ribeira km 111 - CP 319

Fone / Fax: (0**) 41 675-5600

E-mail: sac@cnpf.embrapa.br

Para reclamações e sugestões *Fale com o Ouvidor*.
www.embrapa.br/ouvidoria

1ª edição

1ª impressão (2004): conforme demanda



Comitê de publicações

Presidente: Luciano Javier Montoya Vilcahuaman
Secretária-Executiva: Cleide da S.N.F. de Oliveira
Membros: Antonio Maciel Botelho Machado / Edilson Batista de Oliveira / Jarbas Yukio Shimizu / José Alfredo Sturion / Patricia Póvoa de Mattos / Susete do Rocio Chiarello Penteado
Supervisor editorial: Sérgio Galad
Revisão texto: Rejane Stumpf Sberze
Foto: Ivar Wendling
Normalização bibliográfica: Elizabeth Câmara Trevisan / Lidia Woronkoff
Editoração eletrônica: Cleide Fernandes de Oliveira

Expediente