



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE ENGENHARIA FLORESTAL
Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais e Ambientais

EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE E
TIPOS DE VEDAÇÃO NO CULTIVO *in vitro* E NO
ENRAIZAMENTO *ex vitro* DE TECA (*Tectona grandis* L.f.)

DAYANE ÁVILA FERNANDES

CUIABÁ-MT

2012

DAYANE ÁVILA FERNANDES

**EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE
SACAROSE E TIPOS DE VEDAÇÃO NO CULTIVO *in vitro* E
NO ENRAIZAMENTO *ex vitro* DE TECA (*Tectona grandis* L.f.)**

Orientador: Prof. Dr. Reginaldo Brito da Costa

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Mato Grosso, como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação em Ciências Florestais e Ambientais, para obtenção do título de mestre.

CUIABÁ-MT

2012

FICHA CATALOGRÁFICA

F363e Fernandes, Dayane Ávila.
Efeito de diferentes concentrações de sacarose e tipos de vedação no cultivo *in vitro* e no enraizamento *ex vitro* de teca (*Tectona grandis* L.f.) / Dayane Ávila Fernandes. – 2012.
65 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Reginaldo Brito da Costa.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Engenharia Florestal, Pós-Graduação em Ciências Florestais e Ambientais, 2012.

Inclui bibliografia.

1. *Tectona grandis* (Teca). 2. Teca – Cultivo *in vitro*. 3. Teca – Concentração de sacarose. 4. Teca – Enraizamento. I. Título.

CDU – 630*23

Ficha elaborada por: Rosângela Aparecida Vicente Söhn – CRB-1/931

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE ENGENHARIA FLORESTAL
Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais e Ambientais

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO: EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE E TIPOS DE VEDAÇÃO NO CULTIVO *in vitro* E NO ENRAIZAMENTO *ex vitro* DE TECA (*Tectona grandis* L.f.)

Autora: Dayane Ávila Fernandes

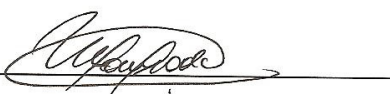
Orientador: Prof. Dr. Reginaldo Brito da Costa

Aprovada em 15 de fevereiro de 2012.


Comissão Examinadora:



Prof. Dr. Diego Tyszka Martinez
UFMT/FENF



Dr. Wirifran Fernandes de Andrade
Gerente de Pesquisa e Desenvolvimento
Floresteca



Prof. Dr. Reginaldo Brito da Costa
Orientador – UFMT/FENF

*"Não é a mais forte das espécies que sobrevive,
nem mesmo a mais inteligente,
e sim aquela mais suscetível às mudanças."*

(DARWIN)

Aos meus pais, Vera e Osmar.

Ao meu querido irmão, Osmar Júnior.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa.

Ao prof. Dr. Reginaldo Brito da Costa, por ser além de orientador, um amigo, por todos os ensinamentos e pela confiança em todos os momentos.

Ao Dr. Wirifran Fernandes de Andrade, gerente de pesquisa da empresa Bioteca, por disponibilizar o espaço físico e pelo apoio indispensável para a realização deste projeto.

Ao Prof. Dr. Joadil Gonçalves de Abreu pela contribuição com as análises estatísticas.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais e Ambientais, que transmitiram seus conhecimentos contribuindo tanto para o crescimento pessoal, quanto para o desenvolvimento profissional dos alunos.

Aos meus colegas de classe, pelos agradáveis momentos passados durante o curso, em especial ao Allan Pelissari e ao Luciano Lanssanova, amigos que levarei por toda vida.

Às minhas amigas-irmãs Erika Segóvia, Juliane Dias e Luana Azevedo pela presença constante em minha vida, pelo companheirismo e paciência. “Porque amigo é direção. Amigo é a base quando falta o chão!”.

A todos os funcionários da Bioteca que contribuíram de forma direta ou indireta, em especial ao pessoal do viveiro, por toda ajuda no processo de execução do experimento, tornando possível a realização deste trabalho.

Aos meus pais Osmar e Vera, e ao meu irmão Osmar Junior, que são minha base, meu porto seguro, e a razão da minha vida!

A todos meu muito obrigada!

LISTA DE TABELAS

1. DISTRIBUIÇÃO DOS EXPLANTES ENTRE OS TRATAMENTOS TESTADOS EM LABORATÓRIO.....	37
2. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA COMPRIMENTO, NÚMERO DE ENTRENÓS E MATÉRIA SECA EM FUNÇÃO DA VEDAÇÃO E DAS CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE.....	39
3. DISTRIBUIÇÃO DAS MUDAS ENTRE OS TRATAMENTOS TESTADOS NO VIVEIRO, NO MUNICÍPIO DE JANGADA, ESTADO DE MATO GROSSO.....	54
4. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA COMPRIMENTO, DIÂMETRO DO COLO E MATÉRIA FRESCA EM MUDAS DE TECA NA CASA DE VEGETAÇÃO (AVALIAÇÃO 1), NO MUNICÍPIO DE JANGADA, ESTADO DE MATO GROSSO.....	56
5. COMPRIMENTO (cm) DE MUDAS DE TECA SUBMETIDAS A DIFERENTES CULTIVOS <i>in vitro</i> E AUSÊNCIA/PRESENÇA DE SACAROSE.....	57
6. DIÂMETRO DO COLO (cm) DE MUDAS DE TECA SUBMETIDAS A DIFERENTES CULTIVOS <i>in vitro</i> E AUSÊNCIA/PRESENÇA DE SACAROSE.....	58
7. PESO DA MATÉRIA FRESCA (mg) DE MUDAS DE TECA SUBMETIDAS A DIFERENTES CULTIVOS <i>in vitro</i> E AUSÊNCIA/PRESENÇA DE SACAROSE.....	59
8. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA COMPRIMENTO, DIÂMETRO DO COLO E MATÉRIA FRESCA EM MUDAS DE TECA NA CASA DE SOMBRA (AVALIAÇÃO 2), NO MUNICÍPIO DE JANGADA, ESTADO DE MATO GROSSO.....	60
9. COMPRIMENTO (cm) E DIÂMETRO DO COLO (cm) DE MUDAS DE TECA SUBMETIDAS A DIFERENTES CULTIVOS <i>in vitro</i>	61
10. PESO DA MATÉRIA FRESCA (mg) DE MUDAS DE TECA SUBMETIDAS A PRESENÇA/AUSÊNCIA DE SACAROSE.....	62
11. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA COMPRIMENTO, DIÂMETRO DO COLO E MATÉRIA FRESCA EM MUDAS DE TECA NO PLENO SOL (AVALIAÇÃO 3), NO MUNICÍPIO DE JANGADA, ESTADO DE MATO GROSSO.....	63

LISTA DE FIGURAS

1. DESEMPENHO DA VARIÁVEL COMPRIMENTO EM FUNÇÃO DAS TAMPAS (COM FILTRO E SEM FILTRO) E DAS CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE.....	39
2. DESEMPENHO DA VARIÁVEL NÚMERO DE ENTRENÓS EM FUNÇÃO DAS TAMPAS (COM FILTRO E SEM FILTRO) E DAS CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE.....	41
3. DESEMPENHO DA VARIÁVEL MATÉRIA SECA EM FUNÇÃO DAS TAMPAS (COM FILTRO E SEM FILTRO) E DAS CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE.....	43
4. MAPA DE LOCALIZAÇÃO DO VIVEIRO.....	53

RESUMO

FERNANDES, Dayane Ávila. **Efeito de diferentes concentrações de sacarose e tipos de vedação no cultivo *in vitro* e no enraizamento *ex vitro* de teca (*Tectona grandis* L.f.)**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais e Ambientais) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá-MT. Orientador: Prof. Dr. Reginaldo Brito da Costa.

A teca (*Tectona grandis* L.f.) é uma espécie exótica de alto valor comercial mundial. A importância dos carboidratos tanto no cultivo *in vitro* quanto na emissão e formação de raízes vem sendo atualmente bem discutida. O objetivo deste trabalho foi testar o efeito de diferentes concentrações de sacarose e tipos de vedação no cultivo *in vitro* e no enraizamento *ex vitro* de teca. O experimento foi realizado em duas etapas: laboratório e viveiro. No laboratório Bioteca (Várzea Grande-MT), os explantes foram cultivados em meio MS e mantidos por 35 dias em sala de crescimento com temperatura de 30 ± 2 °C e fotoperíodo de 16 h. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 6, sendo dois tipos de vedação (tampa com filtro e tampa sem filtro) e seis concentrações de sacarose (0, 6, 12, 18, 24 e 30 mg.L⁻¹), totalizando doze tratamentos com dez repetições cada. Avaliou-se as seguintes variáveis: comprimento (cm), número de entrenós e matéria seca (mg) dos brotos. No viveiro (Jangada-MT), as microestacas tiveram suas bases imersas nas soluções, e em seguida foram plantadas nos tubetes com substrato a base de casca de pinus bioestabilizada. O delineamento experimental foi em blocos casualizados em esquema fatorial 2 X 2 x 5, considerando as duas formas de cultivo *in vitro* (C1 e C2), a presença e ausência de sacarose, e às cinco concentrações de AIB (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mg.L⁻¹), totalizando vinte tratamentos com seis repetições. O experimento foi dividido em três fases: casa de vegetação, casa de sombra e pleno sol. Foram avaliados: comprimento da parte aérea (cm), diâmetro do colo (cm) e peso da matéria fresca (mg). Os melhores resultados no laboratório foram obtidos com o uso da tampa com filtro. Para o comprimento na concentração de 17 mg.L⁻¹ de sacarose, com 4,1 cm de comprimento. Para o número de entrenós, com 18 mg.L⁻¹ de sacarose a média foi de 4,6 entrenós. Para a matéria seca na concentração de 30 mg.L⁻¹, com 0,0162 mg. No viveiro houve interação entre cultivo e sacarose apenas na casa de vegetação (primeira avaliação) para as três variáveis analisadas. A concentração de AIB não apresentou diferença entre as avaliações e o uso de sacarose mostrou-se necessário principalmente quando houve redução no cultivo *in vitro*.

Palavras-chave: sacarose, vedação, AIB, aclimação.

Abstract

FERNANDES, Dayane Ávila. *Effect of different concentrations of sucrose and seal types on in vitro and ex vitro rooting of teak (Tectona grandis L.f.). 2012. Dissertation (Master of Forestry and Environmental Sciences) - Federal University of Mato Grosso, Cuiabá-MT. Advisor: Prof. Dr. Reginaldo Brito da Costa.*

Teak (*Tectona grandis* L.f.) is an exotic species of high commercial value worldwide. The importance of carbohydrates in both in vitro and in issuing and root formation and is currently being discussed. The objective of this study was to test the effect of different concentrations of sucrose and seal types on in vitro and ex vitro rooting of teak. The experiment was conducted in two stages: laboratory and nursery. In the laboratory Bioteca (Várzea Grande - MT), the explants were cultured on MS medium and maintained for 35 days in a growth chamber at a temperature of 30 ± 2 °C and a photoperiod of 16 h. The experimental design was completely randomized factorial 2×6 , two types of seal (lid and cover with filter without filter) and six concentrations of sucrose (0, 6, 12, 18, 24 and 30 mg.L^{-1}), twelve treatments with ten replicates each. We evaluated the following variables: length (cm), number of internodes and dry weight (mg) of shoots. In the nursery (Jangada-MT), the microcuttings had their bases immersed in the solutions, and then were planted in tubes with the base substrate of pine bark bioestabilizada. The experimental design was completely randomized in a factorial $2 \times 2 \times 5$, considering the two forms of in vitro culture (C1 and C2), the presence and absence of sucrose, and the five IBA concentrations (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 and $2,0 \text{ mg.L}^{-1}$), totaling twenty treatments with six replications. The experiment was divided into three phases: a greenhouse, shade and full sun. Were evaluated: shoot length (cm), diameter (cm) and fresh weight (mg). The best results were obtained in the laboratory using the filter cover. For length at a concentration of 17 mg.L^{-1} of sucrose, with 4,1 cm length. For the number of internodes, with 18 mg L^{-1} sucrose, the average was 4,6 internodes. For the dry matter concentration of 30 mg L^{-1} , with 0,0162 mg. In the nursery there was an interaction between culture and sucrose only in the greenhouse (first test) for the three variables. The IBA concentration showed no difference between the evaluations and the use of sucrose was shown to be necessary especially when there was a reduction in vitro.

Keywords: sucrose, sealing, AIB, acclimatization.

SUMÁRIO

RESUMO ABSTRACT

INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	5
CAPÍTULO I	7
CULTIVO DE TECA (<i>Tectona grandis</i> L.f.): uma revisão	7
RESUMO	7
CHAPTER I	8
CULTIVATION OF TEAK (<i>Tectona grandis</i> L.f.): a review	8
ABSTRACT	8
1. INTRODUÇÃO.....	9
2. A ESPÉCIE.....	11
3. PRODUÇÃO E PROPAGAÇÃO DE MUDAS	15
4. CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS	16
5. CULTIVO <i>in vitro</i> DE TECA	18
6. CONCLUSÕES.....	23
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23
CAPÍTULO II	29
AVALIAÇÃO DE TIPOS DE VEDAÇÃO E CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE NO CULTIVO <i>in vitro</i> DE TECA (<i>Tectona grandis</i> L.f.)	29
RESUMO	29
CHAPTER II	30
EVALUATION OF TYPES OF PACKING AND CONCENTRATIONS OF SUCROSE IN <i>in vitro</i> TECA (<i>Tectona grandis</i> L.f.)	30
ABSTRACT	30
1. INTRODUÇÃO.....	31
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4. CONCLUSÕES.....	44
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
CAPÍTULO III	47
USO DE SACAROSE E ÁCIDO INDOLBUTÍRICO NO ENRAIZAMENTO <i>ex vitro</i> DE TECA (<i>Tectona grandis</i> L.f.)	47
RESUMO	47
CHAPTER III	48
USE OF SUCROSE AND IBA IN <i>ex vitro</i> ROOTING OF TEAK (<i>Tectona grandis</i> L.f.)	48
ABSTRACT	48
1. INTRODUÇÃO.....	49
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	51
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4. CONCLUSÕES.....	62
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
CONCLUSÕES GERAIS E CONSIDERAÇÃO	66

INTRODUÇÃO GERAL

A teca (*Tectona grandis* L.f.) é uma espécie exótica de alto valor comercial mundial pertencente à família Lamiaceae, que inclui espécies que possuem inflorescência paniculada, corola tubular geralmente bilabiada (KEW, 2009).

Inicialmente, os plantios limitavam-se aos países da Ásia Tropical, principalmente Índia, Myanmar e Tailândia, cujo objetivo era compensar o esgotamento das populações naturais de teca que eram exploradas de forma desordenada. Posteriormente, iniciou-se em novas zonas tropicais, particularmente na África Ocidental, América Central e América do Sul, sobretudo na Costa Rica e no Brasil, onde os plantios são caracterizados pela elevada densidade de indivíduos e com rotações mais curtas que as praticadas no sudeste asiático (FIGUEIREDO et al., 2005).

No Brasil, o cultivo de teca iniciou-se ao final da década de 60, sendo implantado pela empresa Cáceres Florestal S.A., no município de Cáceres – Mato Grosso (MATRICARDI, 1989). A introdução aconteceu em 1968 e o reflorestamento em escala comercial ocorreu a partir de 1971 (CALDEIRA e OLIVEIRA, 2008). Apresentou boa adaptação às condições ambientais nacionais, tendo seu ciclo de corte reduzido de 80 anos (nos países de origem) para 25 anos.

A produção de mudas a partir de sementes é amplamente difundida nos trópicos do mundo inteiro (YASODHA et al., 2004), mas mostra-se pouco eficiente, pois a quantidade de sementes produzidas por árvore é reduzida e as taxas de germinação são baixas, variando de 20 a 25% (MONTEUUIS e MAITRE, 2007). Além disso, a mistura genética entre as matrizes durante a floração não garante a expressão de características superiores, que são valorizadas em plantios comerciais.

Através da clonagem ou micropropagação é possível obter mudas de alta qualidade, com características desejáveis, em um curto período de tempo e em escala comercial. Para tanto, é importante estabelecer protocolos de cultivo específicos para cada espécie, pois as

condições de cultivo (temperatura, luminosidade, tipo de frascos, vedação, etc), e a quantidade dos nutrientes presentes no meio de cultura são alguns fatores observados que podem variar entre os indivíduos.

De acordo com Guimarães et al. (1999), as exigências nutricionais requeridas para o crescimento de um tecido cultivado *in vitro*, variam entre as espécies, entre as variedades e até mesmo dentro da própria planta, mostrando a necessidade de adequar o meio de cultura para cada caso.

O cultivo *in vitro* de plantas é uma prática que reúne uma série de fatores e de condições que são essenciais para alcançar o êxito na produção. Cada autor relaciona o sucesso a um fator ou outro, porém o que se observa é que todos estes fatores possuem importância compartilhada, pois se um deles não for executado de forma adequada o produto final pode não ser o esperado.

As plântulas cultivadas *in vitro* não encontram as condições adequadas de iluminação e concentração de CO₂, e algumas vezes, não apresentam os teores de clorofila suficientes para realizar a fotossíntese, não sustentando seu próprio crescimento (SKREBSKY et al., 2004). Portanto, a adição de sacarose ao meio de cultura mostra-se necessária para grande parte das espécies micropropagadas.

A sacarose é o açúcar mais utilizado na micropropagação, pois possui alta solubilidade e rápida metabolização, sendo o mais transportado e armazenado pela maioria dos vegetais (PASQUAL, 2001). A síntese de sacarose ocorre em vários órgãos e tecidos, sendo a principal fonte de carbono utilizada na maior parte dos processos biossintéticos da planta (CASTRO et al., 2005).

A quantidade de açúcar no meio de cultura tem efeito sobre a multiplicação e o crescimento das culturas. Concentrações de 2 a 4% (peso por volume), são frequentemente utilizadas, sendo que abaixo dessa faixa, pode ocorrer clorose nas folhas e, acima dela, pode-se incorrer em problemas de excessivo potencial osmótico do meio, podendo provocar a deterioração das culturas (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

Além disso, observou-se que as plântulas produzidas em laboratório desenvolvem características mixo ou heterotróficas, por absorverem o carbono pronto na forma de carboidrato. Provavelmente isso ocorre devido ao uso de concentrações elevadas, que podem inibir a síntese de clorofila nas espécies cultivadas (RODRIGUES et al., 2006), provocando o não desenvolvimento da capacidade fotoautotrófica, o crescimento reduzido e até causar a morte das mudas na fase de aclimatização (RIBEIRO et al., 2006).

Por isso, pesquisas têm sido desenvolvidas com o intuito de reduzir as concentrações de sacarose ou mesmo testar outras formas de fornecimento de carbono, a fim de induzir um maior grau de autotrofia desses tecidos.

O tipo de vedação empregada tem grande influência no desenvolvimento da cultura, pois determina o nível das trocas gasosas entre o microambiente do frasco e o ambiente externo. O fornecimento de CO₂ como fonte de carbono dentro dos frascos pode ser uma alternativa para a redução de sacarose no meio de cultura, proporcionando a plântula um desenvolvimento mais autotrófico (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). A utilização de tampas totalmente fechadas diminuem as chances de contaminação, mas impedem a entrada de carbono atmosférico.

As plantas produzidas *in vitro* passam de um estado com alta disponibilidade nutricional para uma condição autotrófica, portanto precisam formar raízes rapidamente, para absorver os nutrientes necessários à sua sobrevivência (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). A sacarose também pode ser importante na emissão e formação de raízes, pois reservas abundantes de carboidratos podem estar correlacionadas com maiores porcentagens de enraizamento e sobrevivência das plantas (FACHINELLO et al., 1995).

Na aclimatação, para acelerar o processo de emissão de raízes, as bases das plântulas são rapidamente imersas em soluções contendo AIB (Ácido Indolbutírico), regulador de crescimento do grupo das auxinas que favorece a rizogênese (VALE et al., 2008). Além disso,

alguns estudos apontaram para a possibilidade de reduzir a concentração de auxina ao combinar seu uso com a sacarose, fator que pode ser considerado excepcional, pois do ponto de vista econômico, isso significa uma redução no custo final das mudas.

Sendo assim, a adaptação do ambiente no cultivo *in vitro*, visando aumento no fornecimento de CO₂, poderá favorecer o aumento na taxa de fotossíntese, e ainda contribuir na etapa de enraizamento no ambiente *ex vitro*, com plântulas mais resistentes ao estresse sofrido na fase de transplântio.

O objetivo geral do trabalho foi testar o efeito de diferentes concentrações de sacarose e tipos de vedação no cultivo *in vitro* e o uso de sacarose em diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) no enraizamento *ex vitro* de teca.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CALDEIRA, S. F.; OLIVEIRA, D. L. C. Desbaste seletivo em povoamentos de *Tectona grandis* com diferentes idades. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 38, n. 2, 2008.
- CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; PERES, L. E. P. **Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática**. Piracicaba: Editora Agronômica Ceres, 2005. 650p.
- FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G. R. L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2. ed. Pelotas: Editora e Gráfica Universitária, 1995. 178 p..
- FIGUEIREDO, E. O.; OLIVEIRA, L. C.; BARBOSA, L. K. F. **Teca (*Tectona grandis* L.f.): principais perguntas do futuro empreendedor florestal**. Rio Branco: Embrapa Acre, 2005, 87 p. il. Color. (Embrapa Acre. Documentos, 97).
- GUIMARÃES, P. T. C.; PASQUAL, M.; MIRANDA, A. M. P. Efeito de diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose sobre a propagação *in vitro* de samambaia-espada [*Neprolepis exaltata* (L.) Schott]. **Ciência e Agrotécologia**, Lavras, v. 23, n. 2, p. 309-316, abr./jun., 1999.
- 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: Embrapa – SPI / Embrapa – CNPH, 1998, v. 1, p. 183-260.
- KEW. Lamiaceae (Labiatae). **Kew: Royal Botanic Gardens**, 2009.
- MATRICARDI, W. A. T. **Efeito dos fatores do sobre o desenvolvimento da teca (*Tectona grandis* L.F.) cultivada em grande Cáceres- Mato Grosso**. 1989. 135p. Dissertação (Mestrado- Ciências Florestais) “Escola Superior Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 1989.
- MONTEUUIS, O.; MAITRE, H. F. Advances in teak cloning. **ITTO Tropical Forest update**, Yokohama, v.17, n.3, p.13-15, 2007.
- PASQUAL, M. **Introdução: Fundamentos básicos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001, 97 p.
- 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. **Resumos...** La Plata, INTA, 2006.

RODRIGUES, M. M.; MELO, M. D.; ALOUFA, M. A. I. Propagação vegetativa *in vitro* e análise estrutural de macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.1, p.171-173, jan. 2006.

SKREBSKY, E. C.; NICOLOSO, F. T.; FERRÃO, G. E. Sacarose e período de cultivo *in vitro* na aclimação *ex vitro* de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* Spreng. Pedersen). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1471-1477, set-out, 2004.

VALE, M. R.; CHALFUN, N. N. J.; MENDONÇA, V.; MIRANDA, C. S.; COELHO, G. V. A. Ácido indolbutírico e sacarose no enraizamento de estacas de goiabeira Cultivar Paluma. **Caatinga (Mossoró Brasil)**, v.21, n.3, p. 69-74, jun./ago. 2008.

YASODHA, R.; SUMATHI, R.; GURUMURTHI, K. Micropropagation for quality propagule production in plantation forestry. **Indian Journal of Biotechnology**, Haryana, v. 3, n. 2, p. 159-170, April - 2004.

CAPÍTULO I

CULTIVO DE TECA (*Tectona grandis* L.f.): uma revisão

RESUMO

A presente revisão objetivou reunir trabalhos publicados sobre o cultivo *in vitro* de teca, que ainda carece de maior aporte de dados disponíveis na literatura pertinente, subsidiando os trabalhos relacionados à micropropagação da espécie. A teca desperta grande interesse comercial por apresentar características, tais como beleza, resistência, durabilidade e alto valor econômico. É originária do sudeste asiático, porém com plantios estabelecidos em outras partes do mundo. No Brasil, o cultivo de teca iniciou-se no final da década de 60, sendo implantado pela empresa Cáceres Florestal S.A., no município de Cáceres - MT, onde as condições climáticas favoreceram a adaptação, inclusive com a redução do seu ciclo de corte. A produção de mudas através da propagação clonal tem se mostrado vantajosa devido à multiplicação de matrizes de alta qualidade, em curto período de tempo e em escala comercial. Constatou-se que existem poucos estudos em nível nacional e internacional publicados sobre a micropropagação de teca, provavelmente pelo fato de que as empresas privadas que desenvolvem pesquisas para o avanço da tecnologia utilizada na propagação de indivíduos geneticamente superiores, não divulgarem os resultados, mantendo-os em segredo comercial. De maneira geral, as pesquisas realizadas na área de cultivo *in vitro* da teca, determinaram o melhor protocolo de micropropagação para a espécie, avaliando as fases de assepsia, multiplicação e enraizamento em laboratório ou viveiro, buscando, dessa forma, estabelecer plantios mais produtivos.

Palavras-chave: teca, micropropagação, indivíduos geneticamente superiores, explantes.

CHAPTER I

CULTIVATION OF TEAK (*Tectona grandis* L.f.): A REVIEW

ABSTRACT

This review aimed to bring together papers on the in vitro cultivation of teak, which still needs further input of data available in the literature, supporting the work related to micropropagation of the species. Teak has great commercial interest for presenting characteristics, such as beauty, strength, durability and high economic value. Originates from Southeast Asia, but with plantations established in other parts of the world. In Brazil, the cultivation of teak began in the late 60's, being implemented by the company Caceres Forestry SA in the city of Cáceres - MT, where climatic conditions favored the adaptation, including the reduction of its cutting cycle. The production of seedlings through clonal propagation has proved advantageous due to the matrix multiplication of high quality, in short period of time and in commercial scale. It was found that there are few studies in national and international published on micropropagation of teak, probably by the fact that private companies doing research for the advancement of technology used in the propagation of genetically superior individuals, not to disclose the results, keeping the trade secret. In general, surveys conducted in the area of in vitro cultivation of teak, determined the best micropropagation protocol for the species, evaluating stages of cleansing, multiplication and rooting in the laboratory or nursery, seeking thus to establish more productive crops.

Key words: teak, micropropagation, genetically superior, explants.

1. INTRODUÇÃO

A teca (*Tectona grandis* L.f.) é uma espécie arbórea que combina beleza, resistência e durabilidade, sendo considerada uma das madeiras mais valiosas do mundo.

A produção de mudas pode ser feita através do plantio do fruto inteiro, pois as sementes que estão no seu interior são pequenas e delicadas dificultando sua propagação direta. A mistura genética entre as variadas matrizes, que pode ocorrer no período de floração através da polinização, pode ser um fator considerável na seleção de sementes de qualidade (CÁCERES FLORESTAL, 2000). Devido a esses cruzamentos, os aspectos morfológicos apresentados por uma matriz selecionada podem não ser expressos em seus descendentes. Neste sentido, a quantidade de sementes produzidas por árvore é reduzida e as taxas de germinação são baixas, variando de 20 a 25% (MONTEUUIS e MAITRE, 2007). Isso remete à necessidade do desenvolvimento de técnicas de propagação vegetativa para tornar sua produção eficiente e economicamente viável.

A micropropagação torna-se uma alternativa para a obtenção de mudas de alta qualidade, com características desejáveis, em curto período de tempo e em escala comercial. Diversas pesquisas têm sido realizadas no sentido de manipular o ambiente de cultivo, objetivando otimizar a técnica, tornando-a economicamente viável e mais acessível. Além disso, é muito importante estabelecer protocolos de micropropagação para cada espécie. O sucesso da técnica de clonagem tem como seu ponto de partida, a recomendação de um protocolo de assepsia e estabelecimento *in vitro* com o maior número de explantes, menor produção de compostos fenólicos (oxidação) e com maior sobrevivência para as etapas seguintes (FERMINO JUNIOR et al., 2009).

Alguns trabalhos envolvendo estudos relacionados ao cultivo *in vitro* foram realizados com diversas espécies, tais como *Matricaria recutita* (CATTELAN et al., 2007), *Thymus vulgaris* (BANDEIRA et al., 2007), *Pfaffia glomerata* (NICOLOSO et al., 2001; NICOLOSO et al., 2003;

SKREBSKI et al., 2004; MALDANER et al., 2006; MALDANER et al., 2007), *Dyckia marítima* (SILVA et al., 2006), *Oncidium baueri* (SORACE et al., 2007), entre outros.

No caso da teca, observa-se uma carência de pesquisas, voltadas especificamente ao cultivo *in vitro*. O maior aporte de informações advém de alguns trabalhos publicados em revistas internacionais (ROSETO e RAMOS, 1998; DAQUINTA et al., 2001; TIWARI et al., 2002; ABDELNOUR e MUÑOS, 2005; SHIRIN et al., 2005; GYVES et al., 2007; AKRAM e AFTAB, 2009; NOR AINI et al., 2009). Dessa forma, a contribuição de pesquisas brasileiras no meio científico mundial se mostra incipiente.

Além disso, Costa et al. (2007) ressalta que existe uma carência em programas de melhoramento genético de teca no Brasil apontando para uma necessidade premente de se estabelecer uma rede experimental, na qual haveria intercâmbio de informações e pesquisas entre as instituições de ensino e empresas privadas envolvidas no cultivo da espécie. A partir desta rede seria possível obter resultados relevantes e estabelecer um programa de melhoramento. Nessa linha inserem-se pesquisas que produzam o desejável avanço do cultivo *in vitro* da teca como ferramenta importante para programas de melhoramento da espécie.

Torna-se importante a divulgação de estudos que verifiquem a viabilidade do estabelecimento de plantios clonais de teca, além de uma estratégia de conservação de genótipos valiosos para programas de melhoramento, inclusive despertando a discussão sobre esse assunto (PALANISAMY et al., 2009).

Neste contexto, a presente revisão objetivou reunir trabalhos publicados sobre o cultivo *in vitro* de teca, que ainda carece de maior aporte de dados disponíveis na literatura pertinente, subsidiando os trabalhos relacionados à micropropagação da espécie.

2. A ESPÉCIE

A teca (*Tectona grandis* L.f.) é uma espécie arbórea decídua de floresta tropical, pertencente à família Lamiaceae (KEW, 2009). Esta espécie em sua região de origem pode desenvolver indivíduos de até 60 metros de altura, dotados ou não de raízes tabulares (KRISHNAPILLAY, 2000). No Brasil, o tamanho varia entre 20 e 35 m de altura e 0,95 m de diâmetro, na idade adulta (EMBRAPA FLORESTAS, 2004).

As folhas da teca são opostas, elípticas, coriáceas e ásperas no tato, dotadas de pecíolos curtos ou ausentes e ápice e base agudos. Nos indivíduos adultos as folhas, em média, possuem 30 a 40 cm de comprimento por 25 cm de largura. No entanto, nos indivíduos mais jovens, com até 3 anos de idade, as folhas podem atingir o dobro dessas dimensões.

As flores apresentam características morfológicas tais como: folhas coriáceas que medem de 30 a 60 cm de comprimento por 20 a 35 cm de largura, tornando a árvore sombreante desde a fase juvenil (ANGELI e STAPE, 2003). São do tipo actinomórfica e hermafrodita normalmente possuem seis pétalas e um único verticilo, com pistilos compostos de um ovário com quatro óvulos e um estilo com o estigma bifurcado. Estilo e os estames possuem cerca de 6 mm de comprimento e o diâmetro da corola é de 6-8 mm.

Os frutos são do tipo drupa, cilíndricos, de cor marrom e apresentam quatro cavidades, dentro das quais estão as sementes (uma por cavidade); porém, nem todas germinam. Este conjunto está incluso em um involúcro vesicular de consistência membranosa (SCHUBERT, 1974). A primeira frutificação ocorre aos 5 ou 6 anos de idade. Perde as folhas durante a estação seca, sendo chamada caducifólia ou decídua (ANGELI e STAPE, 2003). Tal característica contribui na redução da perda de água para o ambiente através da transpiração exercida pelas folhas.

Conforme Higuchi (1979), a madeira da teca possui alburno amarelado ou esbranquiçado, geralmente delgado, contrastando com o

cerne que é castanho-amarelado. Apresenta anéis de crescimento nítidos e diferenciados nos cortes transversais. O lenho é moderadamente duro, oleoso ao tato (MATRICARDI, 1989).

Diversos autores, dentre eles, Berg (1953), Banijbhatana (1957), Mello (1963), Jacobs (1973), Schubert (1974), Ramakrishina (1978), Pandey e Brown (2000), Krishnapillay (2000), Killmann e Hong (2000), Balooni (2000), Enters (2000) e Mittelman (2000) ressaltam a importância econômica da teca e as qualidades físico-mecânicas, bem como as possibilidades de uso da madeira.

Matricardi (1989) ressaltou que a madeira da teca aceita secagem ao ar livre e em estufa, com perdas e depreciações mínimas decorrentes deste processo, tais como rachaduras e empenamentos, em função de seu baixo coeficiente de contração e excelente estabilidade. O autor salienta que o seu teor de sílica é variável (superior a 14%), entretanto, apesar disto, permite serragem, aplainamento, desenrolamento e laminação de maneira satisfatória.

A madeira da teca alcança bons preços e, compete, no momento em igualdade de situação com madeiras consideradas mundialmente nobres, em especial quando comparada ao mogno. No entanto, na indústria naval o preço da teca sobressai àquelas indicadas para esta utilização (KRISHNAPILLAY, 2000).

Inicialmente, os plantios de teca limitavam-se aos países da Ásia Tropical, principalmente Índia, Myanmar e Tailândia, cujo objetivo era compensar o esgotamento das populações naturais de teca que eram exploradas de forma desordenada. Posteriormente, iniciou-se o cultivo em novas zonas tropicais, particularmente na África Ocidental, América Central e América do Sul, sobretudo na Costa Rica e no Brasil, onde os plantios são caracterizados pela elevada densidade de indivíduos e com rotações mais curtas que as praticadas no sudeste asiático (FIGUEIREDO et al., 2005).

A teca desenvolve-se bem em regiões de clima quente, com temperaturas médias anuais acima de 24 °C, com pluviosidade acima de 1200 mm anuais, em solo profundo, drenado, arejado e razoável

fertilidade, demonstram também boa resistência ao fogo (FIGUEIREDO, 2001). Conforme Macedo et al. (2005), trata-se de uma árvore de grande porte, de rápido crescimento, produtora de madeira nobre. Possui tronco retilíneo, fácil de cultivar, pouco sujeito às pragas e doenças. Seu cerne possui tectoquinona, um preservativo natural contido nas células da madeira que a previne do ataque de pragas. O caúcho é outra substância que está presente no cerne e também no alburno, ajudando na redução e absorção de água, assim como na lubrificação das superfícies (ANGELI e STAPE, 2003)

A madeira da teca apresenta alta durabilidade, resistência, além da beleza estética, mundialmente recebe uma variedade de usos. A beleza é representada por sua coloração diferenciada, apresentando-se clara na região do alburno que faz contraste com o cerne, cuja cor é marrom viva e brilhante. É uma madeira leve que apresenta boa resistência ao peso, tração e flexão. Possui grande estabilidade durante o período de secagem, quase não empena, contrai-se pouco e resiste à variação de umidade no ambiente. A beleza exótica faz a teca ser muito procurada na fabricação de móveis finos, utilizados para efeito decorativo de interiores luxuosos. Além disso, a resistência e durabilidade fazem com que possa também ser utilizada na construção naval e esquadrias de alto padrão, laminação e compensados, lenha e carvão vegetal (ANGELI e STAPE, 2003; MACEDO et al., 2005).

Diante de tais características, o reflorestamento da teca é atualmente considerado uma ótima opção de investimento. A espécie adaptou-se muito bem a algumas regiões do Brasil onde as condições climáticas se assemelham aquelas encontradas nos países de origem, inclusive com valor econômico mais elevado em comparação ao mogno amazônico (ANGELI e STAPE, 2003).

No Brasil, o cultivo de teca iniciou-se ao final da década de 60, sendo implantado pela empresa Cáceres Florestal S.A., no município de Cáceres - MT (MATRICARDI, 1989). A introdução aconteceu em 1968 e o reflorestamento em escala comercial ocorreu a partir de 1971 (CALDEIRA e OLIVEIRA, 2008).

Em 1968, com o propósito de assegurar a disponibilidade sustentada de madeira para sua indústria, a empresa deu início a pesquisa e experimentação do reflorestamento. Foram testadas diversas espécies nativas e exóticas, com destaque para o mogno. A espécie mostrou ser uma planta sensível e de difícil estabelecimento e condução. A teca sobressaiu às demais espécies testadas, por sua rusticidade, rápido crescimento inicial e boa forma florestal. Contribuíram também para sua seleção a grande procura e o elevado preço que sua madeira já experimentava no mercado internacional (CÁCERES FLORESTAL, 2005). Uma inovação marcante que caracteriza o plantio em Cáceres é a redução no prazo do ciclo de corte, de 20 a 25 anos. Nas demais plantações no exterior, o ciclo varia entre 60 e 80 anos (ANGELI e STAPE, 2003).

A origem das matrizes introduzidas no Brasil ainda é desconhecida, tendo-se somente registro de materiais provenientes da Índia que foram utilizados em plantios de teca realizados no Jardim Botânico do Rio de Janeiro e no Horto Florestal de Rio Claro (MATRICARDI, 1989). Conforme a ABRAF (2009), os estados brasileiros com os maiores plantios de teca são o Mato Grosso, o Amazonas e o Acre, com a superfície plantada abrangendo cerca de 58.000 ha.

As informações disponíveis para subsidiar programas silviculturais para a espécie adaptados às diversas condições regionais ainda são incipientes no país (TONINI et al., 2009). Dados de crescimento e produção ainda são escassos nos trópicos e muito reduzidos no país, mostrando a importância de realizar e publicar levantamentos, uma vez que a produção em larga escala aumenta a cada dia.

No estado de Mato Grosso os primeiros plantios comerciais ocorreram no início da década de setenta, no município de Cáceres. Na primeira metade da década de noventa as áreas de florestas de teca não passavam de 2.000 hectares, sendo a quase totalidade de uma única empresa. Conforme dados obtidos da Empresa Floresteca, a sua área plantada perfaz mais de 20 mil hectares, sendo que as primeiras mudas foram estabelecidas em 1994 (ROMIO, 2006).

Em relação ao melhoramento genético da espécie, no Brasil existem alguns programas com a teca, porém realizados por empresas privadas que não divulgam seus dados, de forma que a variação genética existente entre e dentro de populações não tem sido explorada adequadamente (COSTA et al., 2007).

3. PRODUÇÃO E PROPAGAÇÃO DE MUDAS

A produção de mudas pode ser feita através do plantio direto do fruto, pois as sementes são muito pequenas e delicadas, dificultando sua propagação. Alguns aspectos morfológicos desejáveis em uma árvore matriz devem ser considerados na seleção de sementes de qualidade. Porém, o fato de uma árvore apresentar uma estrutura ideal para que seus frutos sejam selecionados, isso não é garantia de que seus descendentes apresentarão as mesmas características, pois são realizados cruzamentos durante o período de floração através da polinização. Com isso, ocorre a mistura de características genéticas entre as variadas matrizes (CÁCERES FLORESTAL, 2000).

O cultivo de teca por sementes é amplamente difundido nos trópicos (YASODHA et al., 2004). A produção de mudas nesse caso é pouco eficiente, em função da reduzida quantidade de sementes por árvore e baixas taxas de germinação (MONTEUUIS e MAITRE, 2007). Diante deste quadro, há uma procura por outras opções de produção que impulsionam o desenvolvimento de novas técnicas de reprodução vegetativa.

A biotecnologia tem sido um instrumento de resgate e preservação da biodiversidade da floresta tropical (DAQUINTA et al., 2001), e a clonagem tem contribuído para propagação em larga escala de genótipos superiores. A propagação clonal emerge nesse cenário como uma estratégia que apresenta ganhos consideráveis na obtenção das mudas, pois a técnica proporcionou a maximização da produção, mantendo características que desejáveis (HIGASHI et al., 2000). A micropropagação de espécies lenhosas tem como objetivo básico o

estabelecimento de uma metodologia de multiplicação clonal de indivíduos superiores.

A micropropagação ou propagação *in vitro* permite a produção massal de indivíduos com características genéticas desejáveis e alto padrão de sanidade das mudas, em um curto período de tempo. Neste aspecto, o emprego de técnicas biotecnológicas em espécies florestais, especialmente em áreas reflorestadas, poderá aumentar a disponibilidade de madeira, reduzindo a pressão sobre as florestas nativas (FERMINO JUNIOR et al., 2009).

Portanto, a produção de mudas clonais de teca para plantios florestais constitui-se em uma promissora contribuição para o setor florestal do Brasil, permitindo o desenvolvimento de conservação, utilização e proteção de recursos florestais (VIANA et al., 1999).

No país existem diversas biofábricas de produção de mudas clonais de teca, porém a falta de publicação de dados referentes aos métodos utilizados dificulta e atrasa o intercâmbio de informações entre os pesquisadores nacionais e a comunidade científica internacional.

4. CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS

A cultura de tecidos vegetais envolve um processo no qual pequenos fragmentos de tecido vivo (chamados de explantes), são isolados, desinfestados e cultivados assepticamente, por períodos indefinidos num meio de cultura apropriado (ANDRADE, 2002). O sucesso da técnica de micropropagação tem como seu ponto de partida a recomendação de um protocolo de assepsia e estabelecimento *in vitro*, com o maior número de explantes assépticos, menor produção de compostos fenólicos (oxidação) e com maior sobrevivência dos explantes para as etapas seguintes (FERMINO JUNIOR et al., 2009).

Para Grattapaglia e Machado (1998), o procedimento da clonagem de forma eficiente, depende do controle de um grande número de variáveis, pois cada espécie (ou clone) apresenta características únicas e, portanto, as necessidades para o cultivo *in vitro* também tendem

a ser únicas. Uma das variáveis a serem controladas é o meio de cultura no qual o explante será inoculado, pois representa a base nutritiva necessária para seu desenvolvimento. Porém, a composição do meio de cultivo não é considerada a variável determinante para o sucesso da micropropagação, devido ao conhecimento difundido da função dos componentes utilizados e à repetibilidade a qual uma determinada formulação é submetida. Dessa forma, o grande desafio encontra-se desde antes de excisar o explante inicial, em todos os passos do cultivo até o transplante da plântula produzida (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

Contudo, o sucesso da micropropagação não se deve somente aos fatores inerentes ao tecido vegetal (genéticos e fisiológicos), mas também às condições térmicas e luminosas nas quais a cultura é mantida, e ainda ao meio de cultura apropriado que possibilita a indução, a multiplicação e o crescimento das brotações adventícias (NAGAO et al., 1994). As exigências nutricionais requeridas para o crescimento de um tecido cultivado *in vitro*, variam entre as espécies, entre as variedades e até mesmo dentro da própria planta, mostrando a necessidade de adequar o meio de cultura para cada caso.

Os meios de cultura, além de fornecer as substâncias essenciais para o crescimento, também controlam o padrão de desenvolvimento *in vitro* (CALDAS et al., 1990). Alguns desses meios foram especificamente desenvolvidos para fornecer os requisitos particulares à espécie trabalhada, como o meio básico de cultura de MURASHIGE e SKOOG (1962), desenvolvido inicialmente para o tecido medular de *Nicotiana tabacum*. Assim, para cada espécie cultivada, o meio de cultura é adaptado de acordo com as necessidades do explante, pois existem diferenças fisiológicas entre e até dentro das espécies.

Percebe-se que o cultivo *in vitro* de plantas é uma prática que reúne uma série de fatores e de condições que são essenciais para o êxito da técnica de micropropagação. Cada autor relaciona o sucesso a um fator ou outro, porém o que se observa é que todos estes fatores

possuem importância compartilhada, pois se um deles não for executado de forma adequada o produto final pode não ser o esperado.

Segundo Carvalho e Vidal (2003), na micropropagação, podem ser utilizados os seguintes métodos: *i*) proliferação de gemas axilares; *ii*) indução de gemas adventícias por organogênese direta ou indireta; *iv*) embriogênese somática; *v*) embriogênese direta; *vi*) embriogênese indireta;

A proliferação de gemas axilares é, geralmente, preferida na micropropagação de espécies lenhosas, muito utilizada para o gênero *Eucalyptus* (XAVIER et al., 2007). Os segmentos nodais ou apicais são apropriados para a utilização como fonte de explantes por apresentarem as seguintes vantagens: adaptação às condições *in vitro*; alto grau de valor genético da planta-matriz; maior garantia de regeneração e economia de espaço para armazenamento em salas de crescimento (CARVALHO e VIDAL 2003).

Outra vantagem do uso desse sistema está relacionada à possibilidade de propagação de árvores selecionadas em qualquer idade, constituindo-se em uma alternativa em relação aos métodos clássicos de propagação vegetativa. A proliferação de gemas axilares de várias espécies de Eucalipto mostrou-se adequada no rejuvenescimento de clones selecionados, com experiências relatadas com os mais diversos objetivos almejados (XAVIER et al., 2007).

5. CULTIVO *in vitro* DE TECA

Diante das vantagens de utilizar a teca nas práticas de reflorestamento como uma atividade rentável e promissora, bem como mostrar o sucesso proporcionado pela clonagem vegetal através da micropropagação, apresentam-se estudos relacionados especificamente ao cultivo *in vitro* de teca.

Pesquisas que visaram estabelecer um protocolo de propagação *in vitro* de teca foram desenvolvidos por Rosero e Ramos (1998) e Daquinta et al. (2001), dentre os experimentos realizados em

cada fase de cultivo destacou-se a fase de multiplicação na qual ambos testaram o efeito de BAP (Benzilaminopurina) e KIN (Cinetina) e obtiveram melhor resultado na combinação de 1 mg.L⁻¹ de BAP + 0,5 mg.L⁻¹ de KIN, mostrando o bom desempenho no uso desses reguladores de crescimento. Contudo, Daquinta et al. (2002) observaram que no meio MS suplementado com 0,5 mg.L⁻¹ BAP e 0,25 mg.L⁻¹ KIN, obteve-se indução de brotação. Ao utilizar a metade da concentração dessas citocininas ou o meio sem reguladores de crescimento, a regeneração foi nula.

Já Tiwari et al. (2002), testaram o efeito do BAP combinado com o AIA (Ácido Indolacético), sendo que o meio suplementado com 2 mg.L⁻¹ de BAP e 0,0 ou 0,05 mg.L⁻¹ de AIA (Ácido Indolacético) produziu maior número de brotações quando comparado aos demais tratamentos. A interação entre o BAP e o AIA mostrou-se significativa para a formação de brotos e posterior alongamento neste caso.

Ao realizar um estudo para avaliar a técnica de micropropagação, Abdelnour e Muños (2005) observaram que na fase de multiplicação, a adição de 1 mg.L⁻¹ e 2 mg.L⁻¹ de BA (Benziladenina) favoreceu o desenvolvimento de uma maior porcentagem plântulas (64% e 71% respectivamente), aumentando também o número de entrenós de 2 e 3, respectivamente. Quando combinado o BA (2 mg.L⁻¹) e o AIA (0,02 mg.L⁻¹), obteve-se a maior porcentagem de multiplicação de brotos (80%) e maior média de entrenós com 4,6. Durante este estudo mostrou-se a viabilidade da utilização da micropropagação de teca, estabelecendo uma metodologia básica que permitiu a obtenção de altas taxas de sucesso nas diferentes fases do processo.

O experimento desenvolvido por Akram e Aftab (2009), mostrou um método eficiente para a propagação clonal *in vitro* e estabelecimento de brotos de madeira macia de gemas epicórnica de teca. Os resultados obtidos mostraram que na fase de multiplicação dos ápices, o maior número de brotos foi de 42,80, com comprimento de 54,33 mm da parte aérea, no tratamento MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) + BAP (0,8 mg.L⁻¹) + AIB (0,02 mg.L⁻¹). Testando o efeito de ANA (Ácido

Naftalenolacético) e BAP, Fermino Junior et al. (2009), observaram o melhor resultado na combinação de 0,05 mg.L⁻¹ de ANA + 2 mg.L⁻¹ de BAP, com 1,75 de brotos, enquanto que nas oriundas de plantas adultas (1,75 brotos) foi de 0,05 mg.L⁻¹ de ANA + 4 mg.L⁻¹ de BAP em meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962).

A micropropagação envolve diversas fases para o estabelecimento da cultura *in vitro*, sendo assim, Shirin et al. (2005), descreveram um procedimento para a propagação clonal de teca testando o enraizamento *in vitro*. Apresentando melhor resultado com o meio MS líquido suplementado com 0,01 mg.L⁻¹ de ANA (Ácido Naftalenolacético), com 66,66% de brotos enraizados, com 1,60 raízes por broto. Contudo, Gyves et al. (2006), obtiveram 100% de brotos enraizados no meio de cultura MS modificado contendo AIB (0,5 mg.L⁻¹) combinado com putrescina (160 mg. L⁻¹).

Em outro caso, Nor Aini et al. (2009) testou os efeitos do ambiente claro e escuro combinado com concentrações de AIB (Ácido Indolbutírico), dentre os resultados, observaram que os explantes no regime de luz produziram maior número de raízes e comprimento em baixas concentrações de AIB (0,5 e 1 mg.L⁻¹). Inversamente, quando incubadas no escuro, o maior número médio de raízes e comprimento foram obtidos em concentrações maiores de AIB (2 e 3 mg.L⁻¹). Estes resultados mostraram que o AIB foi necessário para o enraizamento no regime claro e escuro, sendo a concentração ótima de 2 mg.L⁻¹.

Fernandes et al. (2009), testaram diferentes tipos de vedação de frascos e concentrações de sacarose no cultivo *in vitro* de teca. Apenas a variável matéria seca apresentou interação significativa entre os fatores (vedação X sacarose), sendo os melhores resultados obtidos na combinação da TPS (tampa simples) + sacarose (18, 24 e 30 mg.L⁻¹), e na combinação da TPF (tampa plástica com filtro) + sacarose (12 e 18 mg.L⁻¹). Para comprimento e número de entrenós a TPF foi superior e a concentração usual de 30 mg.L⁻¹. Observou-se que é possível reduzir a concentração de sacarose, sem comprometer o desenvolvimento da teca.

Tambarussi (2009) objetivou estudar a organogênese *in vitro* de teca visando desenvolver um método de regeneração eficiente. Ao testar a eficiência do meio de cultura, verificou que o meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) apresentou maior crescimento das plântulas média de 4,0 gemas internodais, já o meio JADS (CORREIA, 1993) e o WPM (LLOYD e MCCOWN, 1980) apresentaram 6,35 e 2,95 respectivamente. O meio MS apresentou melhores resultados para a teca e já foi confirmado como melhor para outras espécies lenhosas (KUSHALKAR e SHARON, 1996; TIWARI et al., 2002). Além disso, ao testar a organogênese obteve 70% de regeneração em nó cotiledonar em meio MS com concentração de 1 mg.L^{-1} de BAP + $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de GA_3 .

Andrade (2010) realizou um estudo para testar a indução de rejuvenescimento através da enxertia seriada e micropropagação. Cerca de 84% dos meristemas para cada tratamento sobreviveram sem oxidação e/ou contaminação, não havendo diferença relacionada ao tipo de material genético utilizado. Na fase de estabelecimento observou-se que houve significância tanto entre os materiais genéticos quanto das concentrações de BAP, para todas as variáveis, apenas com exceção da variável tamanho que não demonstrou diferença entre os materiais genéticos. Na fase de multiplicação e rejuvenescimento, observou-se que com o aumento do número de subcultivos, houve diminuição das brotações no clone B. Assim, apenas a testemunha e o clone A seguiram até o quinto subcultivo. Não houve diferença significativa entre os subcultivos para a testemunha, porém, o clone A apresentou diferença, apresentando melhor resultado para o terceiro, quarto e quinto subcultivos quando comparados ao primeiro e segundo.

De maneira geral os estudos se complementam e são importantes, pois existe o interesse em melhorar o método de propagação vegetativa e a tentativa de otimizar o processo de cultivo *in vitro*. Para melhor visualização e posterior consulta dos trabalhos completos de acordo com o interesse do leitor, as pesquisas descritas são apresentadas de forma resumida no Quadro 1.

QUADRO 1 - ARTIGOS RELACIONADOS COM O CULTIVO *in vitro* DE TECA.

Autores / Ano	Título	Local
ROSERO e RAMOS, 1998	Micropropagación clonal <i>in vitro</i> de árboles seleccionados de <i>Tectona grandis</i> L.(Teca).	Santo Domingo de Los Colorados, Equador
DAQUINTA et al., 2001	Micropropagación de la teca (<i>Tectona grandis</i> L.F.).	Ciego de Avila, Cuba
DAQUINTA et al., 2002	Morfogénesis <i>in vitro</i> de Teca (<i>Tectona grandis</i> L.).	Ciego de Avila, Cuba
TIWARI et al., 2002	An improved micropropagation protocol for teak.	Jabalpur, Índia
ABDELNOUR e MUÑOS, 2005	Micropropagación de teca (<i>Tectona grandis</i> L.f.).	Cartago, Costa Rica
SHIRIN et al., 2005	In vitro clonal propagation of mature <i>Tectona grandis</i> through axillary bud proliferation.	Maharashtra, India
GYVES et al., 2007	Efficient method of micropropagation and in vitro rooting of teak (<i>Tectona grandis</i> L.) focusing on large-scale industrial plantations.	Java, Indonésia
FERNANDES et al., 2009	Cultivo <i>in vitro</i> de <i>Tectona grandis</i> L.f. submetido a diferentes tipos de vedação dos frascos e concentrações de sacarose.	Mato Grosso, Brasil
AKRAM e AFTAB, 2009	An efficient method for clonal propagation and in vitro establishment of softwood shoots from epicormic buds of teak (<i>Tectona grandis</i> L.).	Lahore, Paquistão
TAMBARUSSI, 2009	Desenvolvimento de metodologias biotecnológicas para a micropropagação, regeneração e transformação genética de teca (<i>Tectona grandis</i> L. f) visando resistência a <i>Hyblaea purea</i> .	São Paulo, Brasil
FERMINO JUNIOR et al., 2009	Estabelecimento, germinação e multiplicação <i>in vitro</i> de teca (<i>Tectona grandis</i> L.f.) a partir de genótipos da Amazônia Sul-Occidental.	Acre, Brasil
NOR AINI et al., 2009	The effects of different indole-3-butyric acid (IBA) concentrations, two light regimes of <i>in vitro</i> rooting and acclimatization of <i>in vitro</i> teak (<i>Tectona grandis</i> L.f) plantlets.	Malaysia, Índia
ANDRADE, 2010	Indução do rejuvenescimento de teca (<i>Tectona grandis</i> L. f) através de enxertia seriada e micropropagação.	Mato Grosso, Brasil
FERMINO JÚNIOR et al., 2011	Enraizamento <i>ex vitro</i> e aclimação de plantas micropropagadas de <i>Tectona grandis</i> .	Acre, Brasil

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A literatura pertinente ao cultivo *in vitro* de teca mostrou que as pesquisas, em sua maioria, determinaram o melhor protocolo de micropropagação para a teca, avaliando as fases de assepsia, multiplicação e enraizamento em laboratório ou viveiro, buscando, dessa forma, a melhor maneira de obter um grande número de indivíduos em menor espaço de tempo.

A produção de mudas clonais de teca para plantios florestais constitui-se em um promissor avanço da biotecnologia para o Brasil, contudo ainda carece de incentivo à pesquisa e divulgação dos resultados, visando progresso e melhoria das técnicas utilizadas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAF - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS. **Anuário estatístico da ABRAF**: ano base 2008. Brasília, DF, 2009. 120 p.

ABDELNOUR, A.; MUÑOS, A. Micropropagación de teca (*Tectona grandis* L.f.). **Kurú: Revista Florestal**, Costa Rica, 2(5), 2005.

AKRAM, M; AFTAB, F. An efficient method for clonal propagation and in vitro establishment of softwood shoots from epicormic buds of teak (*Tectona grandis* L.). **Forestry Studies in China**, v. 11, n. 2, p. 105–110, 2009.

ANDRADE, S. R. M. **Princípios da cultura de tecidos vegetais**. Planaltina, Embrapa Cerrados, 2002, 16p.

ANDRADE, W. F. Indução do rejuvenescimento de teca (*Tectona grandis* L. f) através de enxertia seriada e micropropagação. **Tese** (Doutorado), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, São Paulo, Piracicaba, 75 p., 2010.

ANGELI, A.; STAPE, J. L. **Identificação de espécies florestais: *Tectona grandis* (teca)**. Piracicaba: Copyright 2004, IPEF, 2003.

BALOONI, K. Teak investment programmes: Indian perspective. **Unasyiva**, Roma, v. 51, n. 201, p. 83-94, 2000.

BANDEIRA, J. M.; LIMA, C. S. M.; RUBIN, S.; RIBEIRO, M. V.; FALQUETO, A. R.; PETERS, J. A.; BRAGA, E. J. B. Diferentes tipos de vedação dos frascos e concentrações de sacarose na micropropagação de *Thymus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 472-474, jul. 2007.

BANIJBTHATANA, D. Teak forests of Thailand. **Tropical Silviculture**. Roma, v. 13, n.2, p.193-205, 1957.

BERG, T. A madeira e sua utilização nas construções navais. **Anuário Brasileiro de Economia Florestal**. Rio de Janeiro, v.3, n.6, p.50-51, 1953.

CÁCERES FLORESTAL S/A. **Manual do reflorestamento da Teca**. 2 ed. Cáceres: Cáceres Florestal, 2000.

CÁCERES FLORESTAL S/A. **Plano de manejo florestal sustentável – Resumo**. Dez. 2005.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C., CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP, EMBRAPA-CNPH, p. 37-70, 1990.

CALDEIRA, S. F.; OLIVEIRA, D. L. C. Desbaste seletivo em povoamentos de *Tectona grandis* com diferentes idades. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 38, n. 2, 2008.

CATTELAN, L. V.; STEIN, V. C.; SOUZA, S. A.; HEIDEN, G.; BÜTTOW, M. V.; BOBROWSKI, V. L. Estabelecimento *in vitro* de *Matricaria recutita* utilizando diferentes condições de cultivo. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 201-203, jul. 2007.

CARVALHO, J. M. F. C.; VIDAL, M. S. **Noções de cultivo de tecidos vegetais**. Campina Grande, Embrapa Algodão, 39 p., 2003.

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

COSTA, R. B.; RESENDE, M. D. V.; SILVA, V. S. M. Experimentação e seleção no melhoramento genético de Teca (*Tectona grandis* L.f.). **Floresta e Ambiente**, v.14, n.1, p. 76 - 92, 2007.

DAQUINTA, M.; RAMOS, L.; CAPOTE, I.; LEZCANO, Y.; RODRÍGUEZ, R.; TRINA, D.; ESCALONA, M. Micropropagación de la teca (*Tectona grandis* L.F.). **Revista Florestal Centroamericana**, Comunicación técnica, n. 35, p. 25-28, 2001.

DAQUINTA, M.; RAMOS L.; CAPOTE I.; LEZCANO Y.; RODRÍGUEZ R.; ESCALONA M. Morfogénesis *in vitro* de teca (*Tectona grandis* L.). **Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales**, v. 11, n.1, 2002.

EMBRAPA FLORESTAS. **Teca: *Tectona grandis***. Paraná: Embrapa Florestas, 2004.

ENTERS, T. Site, technology and productivity of teak plantations in Southeast Asia. **Unasyuva**, Roma, v. 51. n. 201, p. 55-61, 2000.

FERMINO JUNIOR, P. C. P.; NAGAO, E. O.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. Estabelecimento, germinação e multiplicação *in vitro* de teca (*Tectona grandis* L.f.) a partir de genótipos da Amazônia Sul-Occidental. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 37, n. 84, p. 427-435, dez. 2009.

FERNANDES, D. A.; DIGNART, S. L.; NOETZOLD, R. Cultivo *in vitro* de *Tectona grandis* L. F. submetido a diferentes tipos de vedação dos frascos e concentrações de sacarose. In: III Semana da Agronomia - I Simpósio de Iniciação Científica em Ciências Agrárias, 2008, Alta Floresta. **Resumo Expandido...**, p. 101-104. (CD-ROM)

FIGUEIREDO, E. O. Reflorestamento com Teca (*Tectona grandis* L.f.) no Estado do Acre. Rio Branco: **Embrapa Acre**, 2001, 28 p.: il. – (Embrapa Acre. Documentos, 65).

FIGUEIREDO, E. O.; OLIVEIRA, L. C.; BARBOSA, L. K. F. Teca (*Tectona grandis* L.f.): principais perguntas do futuro empreendedor florestal. Rio Branco: **Embrapa Acre**, 2005, 87 p. il. Color. (Embrapa Acre. Documentos, 97).

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: Embrapa – SPI / Embrapa – CNPH, 1998, v. 1, p. 183-260.

GYVES, E. M.; ROYANI, J. I.; RUGINI, E. Efficient method of micropropagation and *in vitro* rooting of teak (*Tectona grandis* L.) focusing on large-scale industrial plantations. **Annals of Forest Science**, 64: 73–78, 2007.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. A.; GONÇALVES, A. N. Propagação vegetativa de *Eucalyptus*: princípios básicos e a sua evolução no Brasil. **Circular técnica IPEF**, Piracicaba, n.192, out. 2000.

HIGUCHI, N. **Informações básicas para o manejo florestal da *Tectona grandis* (Teca) introduzida no Alto Jauru**. Universidade Federal de Mato Grosso/ Departamento de Engenharia Florestal. Cuiabá, 92p., 1979.

JACOBS, M. R. **Desenvolvimento e pesquisa florestal no Brasil**. PNUD/FAO/IBDF/BRA-45. Série Técnica/IBDF. Rio de Janeiro, 150 p., 1973.

KEW. Lamiaceae (Labiatae). **Kew: Royal Botanic Gardens**, 2009.

KILLMANN, W.; HONG, L.T. Rubberwood – the success of an agricultural by-product. **Unasyuva**, Roma, v. 51, n. 201, p. 66-72, 2000.

KRISHNAPILLAY, B. Silviculture and management of teak plantations. **Unasyuva**, Roma, v. 51, n. 201, p. 14-21, 2000.

KUSHALKAR, R.; SHARON, M. Direct and indirect somatic embryogenesis of teak (*Tectona grandis* L.). **Current Science**, Bangalore, v. 71, p. 712-715, 1996.

LLOID, G.; MCCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Combined Proceedings International Plant Propagators Society**, Carlisle, v. 30, p. 421-427, 1980.

MACEDO, R. L. G. et al. Desenvolvimento inicial de *Tectona grandis* L. F. (Teca) em diferentes espaçamentos no município de Paracatu, MG. **Cerne**, Lavras, v. 11, n. 1, p. 61-69, jan.-mar. 2005.

MALDANER, J.; NICOLOSO, F. T.; SANTOS, E. S.; FAGUNDES, C. K.; FLORES, R.; JUCOSKI, G. O.; SKREBSKY, E. C. Sacarose e nitrogênio na multiplicação *in vitro* de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1201-1206, 2006.

MALDANER, J.; NICOLOSO, F. T.; SANTOS, E. S.; FAGUNDES, C. K.; FLORES, R.; JUCOSKI, G. O.; SKREBSKY, E. C. Crescimento de plântulas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen cultivadas *in vitro* sob dois níveis de nitrogênio e sacarose, durante seis subculturas sucessivas e aclimatização. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 1, jan./fev. 2007.

MATRICARDI, W. A. T. Efeito dos fatores do sobre o desenvolvimento da teca (*Tectona grandis* L.F.) cultivada em grande Cáceres- Mato Grosso. **Dissertação** (Mestrado - Ciências Florestais) “Escola Superior Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 135p., 1989.

MELLO, H. A. Alguns aspectos da introdução da teca (*Tectona grandis* L.F.) no Brasil. **Anuário Brasileiro de Economia Florestal**, Rio de Janeiro, v.15, n.15, p. 113-119, 1963.

MITTELMAN, A. Teak planting by smallholders in nakhon Sawan, Thailand. **Unasyuva**, Roma, n. 201, v. 51, p. 61-65, 2000.

MONTEUUIS, O.; MAITRE, H.F. Advances in teak cloning. **ITTO Tropical Forest update**, Yokohama, v.17, n.3, p. 13-15, 2007.

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

NAGAO, E. O.; PASQUAL, M.; RAMOS, J. D. Efeitos da sacarose e do nitrogênio inorgânico sobre a multiplicação *in vitro* de brotações de porta-enxerto de citros. **Bragantia**, Campinas, v. 53, n. 1, p. 25-31, 1994.

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, 2003.

NICOLOSO, F. T.; ERIG, A. C.; MARTINS, C. F.; RUSSOWSKI, D. Micropropagação do ginseng brasileiro [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 3, n. 2, p. 11-18, 2001.

NOR AINI, A. S.; GOH, B. L.; RIDZUAN, R. The effects of different indole-3-butyric acid (IBA) concentrations, two light regimes of *in vitro* rooting and acclimatization of *in vitro* teak (*Tectona grandis* L.f) plantlets. **African Journal of Biotechnology** v. 8, n.22, p. 6158-6161, nov. 2009.

PALANISAMY, K.; GIREESAN, K.; NAGARAJAN, V.; HEGDE, M. Selection and clonal multiplication of superior trees of teak (*Tectona grandis*) and preliminary evaluation of clones. **Journal of Tropical Forest Science**, v. 21, n. 2, p. 168–174, 2009.

PANDEY, D.; BROWN, C. Teak: a global overview. **Unasyuva**, Roma, n. 201, v. 51, p. 3-13, 2000.

RAMAKRISHNA, A. Farewell to teak. **Indian Forester**, Dehra Dun, v. 104, n. 9, p. 646-647, 1978.

ROMIO, D. L. Floresteca fecha plantio em 3 mil hectares. **Informativo Floresteca**. Disponível em: <http://www.floresteca.com.br/news.asp>.

ROSETO, N. C.; RAMOS, L. **Micropropagação clonal *in vitro* de árvores selecionadas de *Tectona grandis* L. (Teca)**. Disponível em: http://www.uteq.edu.ec/u_investigacion/biotecnologia/5.pdf

SCHUBERT, T. H. **Teak: *Tectona grandis* L.F.** In: USDA. Forest Service. Seeds of Woody Plants in the United States. Washington, p.803-804, 1974.

SHIRIN, F.; RANA, P. K.; MANDAL, A. K. *In vitro* clonal propagation of mature *Tectona grandis* through axillary bud proliferation. **Journal of Forestry Research**, v. 10, p. 465–469, 2005.

SILVA, A. L. L.; FRANCO, E. T. H.; WALTER, J. M.; BISOGNIN, D. A.; CALGAROTO, S. N. Aclimatização de clones de *Dyckia maritima* em diferentes substratos – Bromeliaceae. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 4, p. 495-498, abr. 2006.

SKREBSKI, E. C.; NICOLOSO, F. T.; FERRÃO, G. E. Sacarose e período de cultivo *in vitro* na aclimatização *ex vitro* de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1471-1477, 2004.

SORACE, M.; FARIA, R. T.; YAMAMOTO, L. Y.; SCHNITZER, J. A.; TAKAHASHI, L. S. A. Influência de auxina na aclimatização de *Oncidium baueri* (Orchidaceae). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 38, n. 2, p. 195-200, abr./jun. 2007.

TAMBARUSSI, E. V. Desenvolvimento de metodologias biotecnológicas para a micropropagação, regeneração e transformação genética de teça (*Tectona grandis* L. f) visando resistência a *Hyblaea purea*. **Dissertação** (Mestrado - Ciências). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, São Paulo, Piracicaba, 122 p., 2009.

TIWARI, S. K.; TIWARI, K. P.; SIRIL, E. A. An improved micropropagation protocol for teak. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Gordrech, n. 71, p. 1-6, 2002.

TONINI, H.; COSTA, M. C. G.; SCHWENGBER, L. A. M. Crescimento da teça (*Tectona grandis*) em reflorestamento na Amazônia Setentrional. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 59, p. 05-14, jul./dez. 2009.

VIANA, A. M.; MAZZA, M.C.; MANTELL, S. Applications of biotechnology for the conservation and sustainable exploitation of plants from Brazilian rain forests. In: BENSON, E.E. **Plant conservation biotechnology**. London: Taylor e Francis, cap.6, p.83-95, 1999.

XAVIER, A.; OTONI, W. C.; PENCHEL, R. M. Micropropagação e enxertia *in vitro* de espécies florestais. In: BORÉM, A. **Biotecnologia Florestal**. Viçosa: UFV, p. 55-74, 2007.

YASODHA, R.; SUMATHI, R.; GURUMURTHI, K. Micropropagation for quality propagule production in plantation forestry. **Indian Journal of Biotechnology**, Haryana, v. 3, n. 2, p. 159-170, April - 2004.

CAPÍTULO II

AVALIAÇÃO DE TIPOS DE VEDAÇÃO E CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE NO CULTIVO *in vitro* DE TECA (*Tectona grandis* L.f.)

RESUMO

A micropropagação surgiu como uma alternativa para a produção de mudas de alta qualidade, com características desejáveis e em escala comercial, porém estudos são regularmente realizados visando reduzir os custos da técnica. O presente estudo objetivou testar concentrações de sacarose e tipos de vedação dos frascos no cultivo *in vitro* de teca (*Tectona grandis* L.f.). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 6, sendo dois tipos de vedação (tampa com filtro e tampa sem filtro) e seis concentrações de sacarose (0, 6, 12, 18, 24 e 30 g.L⁻¹), totalizando doze tratamentos com dez repetições cada um. Os explantes foram cultivados em meio MS e mantidos por 35 dias em sala de crescimento com temperatura de 30 ± 2 °C e fotoperíodo de 16 h. Avaliou-se as seguintes variáveis: comprimento (cm), número de entrenós e matéria seca (mg) dos brotos. Os melhores resultados foram obtidos com o uso da tampa com filtro: na concentração de 17 g.L⁻¹ de sacarose, com 4,1 cm de comprimento; com 18 g.L⁻¹ de sacarose a média foi de 4,6 entrenós e na concentração de 30 g.L⁻¹, com 0,0162 mg de matéria seca.

Palavras-chave: micropropagação, tampa, filtro.

CHAPTER II

EVALUATION OF TYPES OF PACKING AND CONCENTRATIONS OF SUCROSE IN *in vitro* TECA (*Tectona grandis* L.f.)

ABSTRACT

*The micropropagation appeared as an alternative for the production of seedlings of high quality, with desirable characteristics and in commercial scale, however studies are regularly conducted aiming to reduce the costs of technique. The present study aimed was to test concentrations of sucrose and types of sealing the vials in vitro cultivation of teak (*Tectona grandis* L.f.). The experimental design was completely randomized factorial 2 x 6, two types of seal (lid and cover with filter without filter) and six concentrations of sucrose (0, 6, 12, 18, 24 and 30 g.L⁻¹), twelve treatments with ten replicates each. The explants were cultured on MS medium and maintained for 35 days in a growth chamber at a temperature of 30 ±2 °C and a photoperiod of 16 h. We evaluated the following variables: length (cm), number of internodes and dry weight (mg) of shoots. The best results were obtained using the filter cover, in a concentration of 17 g.L⁻¹ sucrose, 4,1 cm long; with 18 g.L⁻¹ sucrose medium was 4,6 and the concentration of internodes 30 g.L⁻¹, and 0,0162 mg of dry matter.*

Keywords: micropropagation, lid, filter.

1. INTRODUÇÃO

A teca (*Tectona grandis* L.f.) é uma espécie florestal pertencente à família Lamiaceae, que possui distribuição natural na Índia, Vietnã e Tailândia, sendo também encontrada em cultivo nos trópicos (KOK, 2009).

Trata-se de uma árvore de grande porte, de rápido crescimento, produtora de madeira nobre. Possui tronco retilíneo, fácil de cultivar, pouco sujeito às pragas e doenças (MACEDO et al., 2005).

A propagação clonal de teca surgiu como uma estratégia que apresentou ganhos consideráveis na obtenção de mudas, pois a técnica proporciona a maximização da produção, mantendo características favoráveis e evitando a variabilidade encontrada em árvores geradas a partir de sementes (HIGASHI et al., 2000).

De acordo com Grattapaglia e Machado (1998) o grande desafio da micropropagação encontra-se na manipulação do material vegetal, desde antes de excisar o explante inicial, em todos os passos do cultivo até o transplântio da plântula produzida. Contudo, Guimarães et al. (1999), atribuem o sucesso da técnica não somente aos fatores inerentes do tecido vegetal, mas também às condições térmicas e luminosas nas quais a cultura é mantida, e ainda ao meio de cultura que representa a base nutritiva necessária para o desenvolvimento da plântula. As exigências nutricionais requeridas para o crescimento de um tecido cultivado *in vitro* variam entre as espécies, entre as variedades e até mesmo dentro da própria planta, mostrando a necessidade de adequar o meio de cultura para cada caso através dos protocolos específicos de cultivo.

Apesar do cuidado para adequar o ambiente do frasco às necessidades do explante, observa-se que as plântulas cultivadas *in vitro* não encontram as condições adequadas de iluminação e concentração de CO₂, e algumas vezes, não apresentam os teores de clorofila suficientes para realizar a fotossíntese, de modo a sustentar seu próprio crescimento (SKREBESKY et al., 2004). Devido a essa baixa capacidade

fotossintética, observa-se que os explantes não são completamente autotróficos e que necessitam da adição de nutrientes para completar seu desenvolvimento. Portanto, assumem um caráter heterotrófico, pois sua principal fonte de carbono e energia encontra-se no meio de cultura no qual é cultivado (PASQUAL, 2001).

A sacarose é o açúcar mais utilizado na micropropagação, pois possui alta solubilidade e rápida metabolização, sendo o mais transportado e armazenado pela maioria dos vegetais (PASQUAL, 2001).

Conforme Grattapaglia e Machado (1998), a quantidade de sacarose tem efeito sobre a multiplicação e o crescimento das culturas. Além disso, desempenha um importante papel como componente do potencial osmótico do meio de cultura; sozinha, ela contribui com 50 a 80% do potencial osmótico do meio (VASCONCELOS et al., 2007). Concentrações de 2 a 4% (peso por volume), são frequentemente utilizadas. Abaixo dessa faixa, pode ocorrer clorose nas folhas e, acima dela, pode-se incorrer em problemas de excessivo potencial osmótico do meio, podendo provocar a deterioração das culturas (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). Concentrações elevadas podem inibir a síntese de clorofila nas espécies cultivadas (RODRIGUES et al., 2006), provocando o não desenvolvimento da capacidade fotoautotrófica, o crescimento reduzido e até causar a morte das mudas na fase de aclimatização (RIBEIRO et al., 2006).

A síntese de sacarose ocorre em vários órgãos e tecidos, sendo a principal fonte de carbono utilizada na maior parte dos processos biossintéticos da planta (CASTRO et al., 2005). É um componente importante como fonte de carbono para alimentar a glicólise e o ciclo de Krebs, lembrando que, inicialmente, o explante, não é suficientemente autotrófico.

Para obter sucesso no desenvolvimento das plântulas, é necessário observar as concentrações do açúcar, pois estas influenciam diretamente nas reações fisiológicas das plantas (MOREIRA et al., 2007). Uma tentativa para reduzir os problemas relacionados ao excesso ou omissão de sacarose, ou ainda a dificuldade da plântula se adaptar ao

ambiente *ex vitro* por apresentar uma característica mais heterotrófica do que autotrófica, seria no sentido de adaptar o microambiente dentro dos frascos de cultura, a fim de oferecer condições mais parecidas com o ambiente natural. Com isso, observa-se a importância de desenvolver um protocolo para cada espécie, considerando as exigências individuais requeridas para cada genótipo.

Segundo Grattapaglia e Machado (1998), o microambiente dentro dos frascos de cultura é um aspecto a ser considerado, pois o que parece ser um ambiente bastante homogêneo tem mostrado ser, na verdade, o responsável pela variabilidade no comportamento das culturas, que pode comprometer todo o sucesso na clonagem vegetal. Os fatores determinantes para a qualidade do microambiente são os tipos de frasco, os tipos de tampas e a quantidade de meio presente no frasco.

O tipo de tampa utilizado tem grande influência no desenvolvimento da cultura, pois ela determina o nível de trocas gasosas entre o ambiente interno e externo. Tampas que vedam totalmente o frasco ajudam na prevenção de contaminações, porém não permitem trocas gasosas adequadas (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998), com isso as plântulas apresentam-se ineficientes na produção de energia através da fotossíntese. Algumas alternativas como perfurar as tampas e preencher o espaço com algodão ou utilizar filtros com microporos para vedar os frascos, podem proporcionar a troca de gases, mantendo a assepsia da cultura e contribuindo na indução da realização de fotossíntese das plântulas ainda no ambiente *in vitro*.

A forma de vedação empregada pode proporcionar o aumento na concentração de CO₂ e simultaneamente a redução da umidade relativa e da concentração de etileno em torno das plântulas. De acordo com Grattapaglia e Machado (1998), o etileno é um gás produzido pelos próprios vegetais e pode influenciar no desenvolvimento das culturas *in vitro*. Seus efeitos deletérios podem ser controlados pelo tipo de vedação. Diante disso, diversas pesquisas relacionadas à alteração na concentração de carboidratos no meio de cultura e a busca do fornecimento de outras fontes de carbono têm sido realizadas no sentido

de manipular o ambiente de cultivo, a fim de induzir um maior grau de autotrofia desses tecidos.

Bandeira et al. (2007), testaram três concentrações de sacarose (30, 40 e 50 g.L⁻¹) e três vedações (algodão, filme de polivinilcloreto e papel alumínio), na micropropagação de explantes de tomilho (*Thymus vulgaris*), e constataram que houve interação significativa entre os fatores para todas as variáveis analisadas (altura, comprimento da raiz principal, número de raízes, folhas, gemas, entrenós e brotos). Foram obtidos melhores resultados utilizando-se 30 g.L⁻¹ de sacarose e vedação com algodão, que pode ser justificada pela maior aeração e maior incidência de luminosidade para as plantas. Este tipo de vedação permite maiores trocas gasosas entre o ar atmosférico e o ambiente do interior dos frascos, além disso, a concentração de 30 g.L⁻¹ de sacarose é a usualmente recomendada e eficiente para a maioria das espécies micropropagadas.

Ribeiro M. V. et al. (2007), experimentaram três concentrações de sacarose (30, 40 e 50 g.L⁻¹) em frascos vedados com algodão, alumínio e filme de polivinilcloreto, no cultivo *in vitro* de erva cidreira verdadeira (*Melissa officinalis*). Constataram interação significativa apenas na variável área foliar ao utilizar vedação de algodão com 30 g.L⁻¹ de sacarose, sendo que o aumento na concentração de sacarose ocasionou a redução da área foliar para essa vedação. Ademais, com o aumento na concentração de sacarose houve redução na altura, número médio de brotos e entrenós das plantas, isso mostrou mais uma vez que a concentração usual de sacarose (30 g.L⁻¹), é eficiente perante as demais testadas.

Langford e Wainwright (1986) sugeriram a redução gradativa na concentração de sacarose no meio de cultura em subculturas sucessivas, tal método foi testado com o intuito de aumentar a capacidade de absorção de CO₂ em brotos cultivados *in vitro*, como forma de complemento da nutrição.

O estímulo para que o fotoautotrofismo ocorra *in vitro*, é importante para evitar que a mudança do sistema de nutrição

(heterotrófico para autotrófico), não ocorra juntamente com os demais estresses sofridos na fase de aclimatização e também para favorecer a sobrevivência das plântulas produzidas (PASQUAL et al., 2001). Em certas espécies, a folhagem formada *in vitro* não consegue se adaptar com êxito a condição fotoautotrófica. Nesses casos, a atividade da enzima RubPcase na fixação do carbono em folhas produzidas *in vitro* é significativamente prejudicada pela sacarose exógena no meio de cultura (GROUT, 1988).

É crescente a preocupação em manter a qualidade das mudas produzidas e reduzir os custos da técnica de micropropagação, portanto os estudos voltados para a melhoria das condições de cultivo existem como forma de aperfeiçoar resultados positivos.

O presente estudo objetivou testar concentrações de sacarose e tipos de vedação dos frascos no cultivo *in vitro* de teca (*Tectona grandis* L.f.).

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório Bioteca Ltda., situado no município de Várzea Grande (Mato Grosso – Brasil), no período de agosto a setembro de 2010. Para realizar este estudo foi utilizado um tipo de clone de teca, denominado como clone A. Esse clone foi introduzido no laboratório através da repicagem de explantes já cultivados *in vitro*, oriundos da Malásia.

Os explantes do clone A foram cultivados no meio de cultura MS, formulado por Murashige e Skoog (1962), variando em seis concentrações diferentes de sacarose (0, 6, 12, 18, 24 e 30 g.L⁻¹), e pH ajustado para 5,8. O meio de cultura semi-sólido foi acrescido de 7 g.L⁻¹ de ágar e posteriormente esterilizado a uma temperatura de 120 °C e 1,5 atm durante 25 minutos.

Os recipientes utilizados para inocular os explantes foram frascos de vidro com capacidade de 350 ml, diâmetro externo de 68 mm e altura de 128 mm (modelo NADIR FIGUEIREDO AZ-200®). Em cada

frasco foi adicionado 40 ml do meio de cultura suplementado com as diferentes concentrações de sacarose propostas anteriormente. Foram utilizados dois tipos de vedação a tampa com filtro (totalmente vedada) e a tampa com filtro. Essa tampa com filtro possuía um espaço cilíndrico central com cerca de 1,0 cm de diâmetro e 2,0 cm de altura, com uma pequena perfuração interna coberta com filtro *millipore*, preenchida com algodão pressionados com uma rolha de borracha, conforme fornecida pelo fabricante (marca Samavidros®, modelo Bio sama). Porém neste caso o algodão foi totalmente removido deixando-se somente o filtro e a rolha de borracha.

Para realizar este experimento foram repicados mil quatrocentos e quarenta segmentos nodais do clone A e inoculados em 120 frascos (sendo 12 explantes por frasco), que foram divididos entre os tratamentos conforme a Tabela 1.

TABELA 1 - DISTRIBUIÇÃO DOS EXPLANTES ENTRE OS TRATAMENTOS TESTADOS EM LABORATÓRIO.

Tipo de vedação	Concentração de sacarose	Quantidade de frascos	Total de frascos
Tampa sem filtro	0 g.L ⁻¹	10	60 frascos
	6 g.L ⁻¹	10	
	12 g.L ⁻¹	10	
	18 g.L ⁻¹	10	
	24 g.L ⁻¹	10	
	30 g.L ⁻¹	10	
Tampa com filtro	0 g.L ⁻¹	10	60 frascos
	6 g.L ⁻¹	10	
	12 g.L ⁻¹	10	
	18 g.L ⁻¹	10	
	24 g.L ⁻¹	10	
	30 g.L ⁻¹	10	

Na sala de crescimento, as culturas foram mantidas em uma prateleira sob a temperatura de 30 ±2 °C e fotoperíodo de 16 horas. A

intensidade luminosa foi proporcionada por duas lâmpadas fluorescentes, fixadas a uma distância de 31 cm acima da prateleira.

A avaliação do experimento foi realizada após 35 dias do início dos cultivos. Primeiramente, os explantes foram retirados dos frascos e tiveram seus calos removidos com o auxílio de uma tesoura. O comprimento das brotações foi medido a partir da base da brotação até o ápice e o número de entrenós foi posteriormente contado. Em seguida, foram colocadas em sacos de papel identificados com o tipo de tratamento e levadas para a secagem em estufa elétrica (Odontobrás EL-1.6), à temperatura de 50 °C durante 48 horas. Após as 48 horas, as plântulas foram pesadas em uma balança semi-analítica (marca BEL, modelo U-Mark 210A), para determinação de sua massa seca.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 6, sendo dois tipos de vedação e seis concentrações de sacarose, totalizando doze tratamentos com dez repetições cada um.

Foram avaliadas as variáveis: matéria seca (mg), comprimento (cm) e número de entrenós dos brotos. Os dados coletados foram submetidos a testes de homogeneidade de variâncias e normalidade; tendo sido comprovados estes parâmetros, foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pela regressão. Toda a análise foi realizada utilizando-se o programa computacional Sistema para Análise de Variância - SISVAR (FERREIRA, 2000).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o resumo da análise de variância, houve interação significativa entre a vedação e a sacarose apenas para as variáveis comprimento de plântulas (cm) e número de entrenós (Tabela 2).

TABELA 2 - RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA COMPRIMENTO, NÚMERO DE ENTRENÓS E MATÉRIA SECA EM FUNÇÃO DA VEDAÇÃO E DAS CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE.

F.V.	GL	Comprimento das plântulas	Número de entrenós	Peso da matéria seca
Vedação (V)	1	5,2903 *	24,5218 **	6,2867 *
Sacarose (S)	5	66,4001 **	92,7409 **	49,9629 **
V x S	5	1,09619 **	3,2872 **	1,4610 ^{ns}
Resíduo	108			
CV (%)		18,93839	14,88563	26,71388

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade

^{ns} Não Significativo

As estimativas para a variável comprimento não mostraram resultados satisfatórios, apresentando um coeficiente de determinação (R^2) moderado (aproximadamente 0,6), provavelmente devido a alta dispersão dos valores observados (Figura 1).

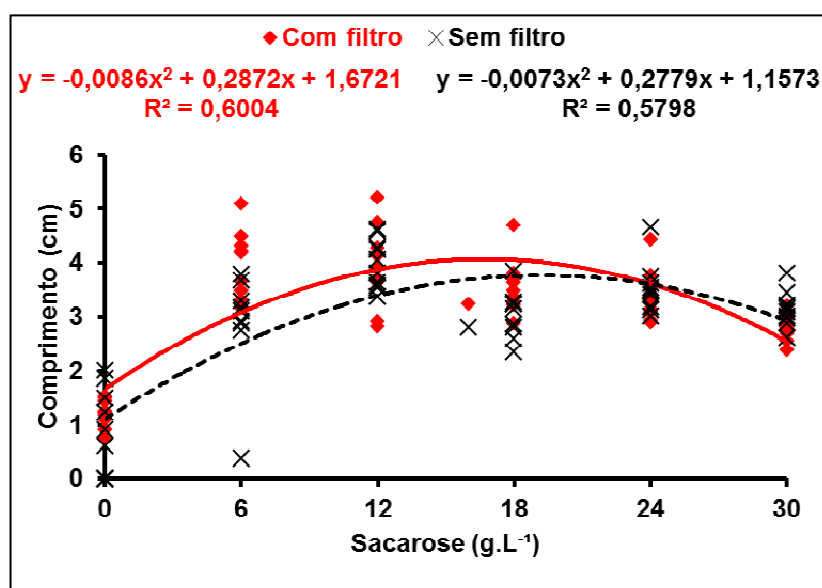


FIGURA 1 - DESEMPENHO DA VARIÁVEL COMPRIMENTO EM FUNÇÃO DAS TAMPAS (COM FILTRO E SEM FILTRO) E DAS CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE.

O maior crescimento foi observado na tampa com filtro e 18 g.L⁻¹ de sacarose com 4,1 cm de comprimento. Para a tampa sem filtro obteve-se 3,8 cm de comprimento na concentração de 19 g.L⁻¹ de sacarose. De modo geral os maiores valores de comprimento foram vistos para a tampa com filtro até cerca de 24 g.L⁻¹ de sacarose, acima dela houve decréscimo dos resultados.

Moreira et al. (2007), ao avaliar diferentes concentrações de sacarose e frutose no desenvolvimento de plântulas de orquídea (*Laelia purpurata* X *Cattleya warneri*), observaram o melhor crescimento das plântulas no tratamento de 20 g.L⁻¹ de sacarose, seguido pelos tratamentos de 10 e 15 g.L⁻¹ de sacarose e frutose. Esses resultados mostraram que a redução da dose de sacarose é possível para algumas espécies, sem contudo, prejudicar o desenvolvimento.

Porém, esse resultado é conflitante com Ribeiro M. F. et al. (2007), que ao testar diferentes fontes de açúcar em diversas concentrações no cultivo de manjeriço roxo (*Ocimum basilicum*), constataram que as maiores alturas das brotações foram obtidas na adição de sacarose, nas doses de 30, 45 e 60 g.L⁻¹. Esse padrão também foi obtido por Rodrigues et al. (2006), que encontraram maior crescimento na altura dos brotos de macieira (*Malus domestica*), nas concentrações de 30 e 45 g.L⁻¹ de sacarose.

Com relação a estudos envolvendo vedação, Ribeiro M. V. et al. (2007) obtiveram maiores médias para altura das plântulas de erva cidreira (*Melissa officinalis*), ao utilizar alumínio. Segundo Taiz e Zeiger (2004), a redução da incidência de luz no interior do frasco leva a um estiolamento do caule das plantas proporcionando aumento em altura.

Damiani e Schuch (2008) observaram que, em explantes de mirtilo cultivados em meio sem a adição de sacarose, o fechamento dos frascos com algodão promoveu um significativo aumento da matéria fresca. Por outro lado, o fechamento dos frascos com algodão, concomitantemente ao aumento da sacarose, e o cultivo em sala de crescimento causaram uma drástica redução da matéria fresca.

Porém, Bandeira et al. (2007) obtiveram a maior média para altura das plantas de tomilho (*Thymus vulgaris*) com 30 g L⁻¹ de sacarose em frascos vedados com algodão. Observaram ainda que concentrações mais elevadas de sacarose, no mesmo sistema de vedação, provocaram um déficit do crescimento da parte aérea. Conforme Grattapaglia e Machado (1998), o tipo de vedação utilizada tem grande influência no desenvolvimento da cultura, pois ela é que vai determinar o nível de trocas gasosas entre o interior do frasco e o ambiente externo.

Para a variável número de entrenós de forma similar, houve interação significativa entre as tampas (sem filtro e com filtro) e as concentrações de sacarose. Neste caso, os resultados apresentados foram satisfatórios com valores para os coeficientes de determinação R² relativamente altos (aproximadamente 0,8). Observou-se que os valores se mostraram mais concentrados ao longo da curva de regressão (Figura 2).

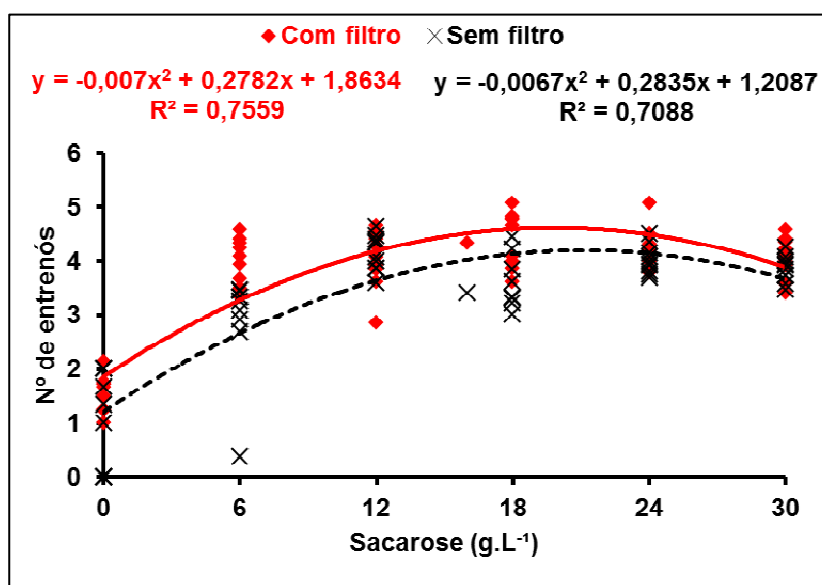


FIGURA 2 - DESEMPENHO DA VARIÁVEL NÚMERO DE ENTRENÓS EM FUNÇÃO DAS TAMPAS (COM FILTRO E SEM FILTRO) E DAS CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE.

O maior crescimento foi obtido no uso da tampa com filtro e 18 g.L⁻¹ de sacarose, com média de 4,6 entrenós. Na tampa sem filtro o melhor resultado foi para 21 g.L⁻¹ de sacarose, com cerca de 4,1

entrenós. Após a concentração de 24 g.L⁻¹ para ambas as tampas observou-se uma queda nos valores analisados.

Pode-se dizer que o número de entrenós produzidos por plântula é considerado um importante parâmetro de crescimento, pois a taxa de multiplicação é um fator significativo na produção de mudas em larga escala. Mas vale ressaltar que a quantidade requerida varia entre as espécies, resultados obtidos por Nicoloso et al. (2003), mostraram um número maior de segmentos nodais produzidos por plântulas de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata*), com o uso de sacarose nas doses de 30, 45 e 60 g.L⁻¹.

Rodrigues et al. (2007), ao testar as concentrações de 20, 30 e 40 g.L⁻¹ de sacarose, observaram maior número de entrenós em plântulas de sempre viva (*Alternanthera dentata*), na concentração de 30 g.L⁻¹ de sacarose.

Em um estudo com erva-cidreira (*Melissa officinalis*), foi verificado um acréscimo na média para a variável número de entrenós ao utilizar a vedação com filme de polivinilcloreto, resultado este que diferiu dos demais tipos de vedação testadas: alumínio e algodão (RIBEIRO M. V. et al., 2007).

Esse efeito pode ser relacionado ao acúmulo da taxa de etileno no interior do recipiente. De acordo com Taiz e Zeiger (2004), o etileno provoca o encurtamento dos entrenós e com isso ocorre um acréscimo no número médio de gemas e de folhas, proporcionando assim o aumento do número de entrenós.

As estimativas para a variável matéria seca apresentaram um coeficiente de determinação (R²) satisfatório (aproximadamente 0,7), porém neste caso as curvas mostraram um comportamento sempre crescente (Figura 3).

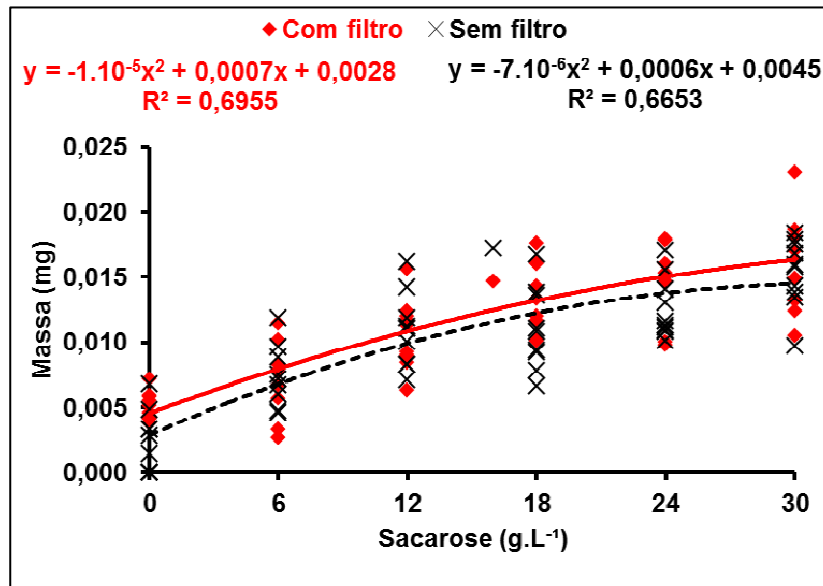


FIGURA 3 - DESEMPENHO DA VARIÁVEL MATÉRIA SECA EM FUNÇÃO DAS TAMPAS (COM FILTRO E SEM FILTRO) E DAS CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE.

Para as duas tampas observou-se que o melhor valor foi obtido na concentração de 30 g.L⁻¹, na tampa com filtro com cerca de 0,0162 mg e na tampa sem filtro cerca de 0,0148 mg de matéria seca.

O tipo de tampa utilizado determina o nível de trocas gasosas entre o ambiente interno e externo dos frascos. Ribeiro M. V. et al. (2007), pesquisaram outras formas de vedação utilizando alumínio, algodão e polivinilcloro, e constataram melhor eficiência no uso de algodão, devido a maior aeração no interior do frasco. Com isso, houve redução na umidade relativa no interior dos frascos, melhorando a transpiração da planta e o desenvolvimento de suas folhas, proporcionando assim o aumento da área para captura de luz e conseqüente indução à realização de fotossíntese.

Dignart (2006) observou muitos aspectos positivos ao cultivar orquídeas *in vitro* com redução da concentração de sacarose de 30 para 15 g.L⁻¹. Outros estudos de micropropagação desta mesma família, também demonstraram incremento de massa seca nas concentrações de 20 e 25 g.L⁻¹ (MOREIRA et al, 2007).

Calvete et al. (2002), observaram o aumento da matéria seca no cultivo de morangueiro com o incremento da concentração de sacarose de 30 g.L⁻¹ utilizadas convencionalmente para 60 g.L⁻¹. Nesse

caso, o maior conteúdo de sacarose no meio de cultivo correspondeu a uma maior concentração de carboidratos no tecido foliar. Com isso, as folhas tiveram capacidade de permanecer mais tempo na planta.

Nicoloso et al. (2003), ao testar diferentes fontes de carboidratos na micropropagação de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata*), constataram que nas concentrações de 30, 45 e 60 g.L⁻¹ de sacarose, foram obtidos maiores valores para massa fresca e seca da parte aérea, bem como da massa seca das raízes.

Percebe-se que diferentes concentrações de sacarose mostraram respostas satisfatórias para as diferentes espécies. Isso porque, as exigências nutricionais requeridas para o crescimento de um tecido cultivado *in vitro*, variam de espécie para espécie, entre as variedades e até mesmo dentro da própria planta, mostrando a necessidade de se otimizar os meios de cultura para cada caso específico (GUIMARÃES et al., 1999).

Enfim, vale ressaltar que nas três variáveis analisadas, a concentração 0 g.L⁻¹ de sacarose foi observado um pequeno desenvolvimento das plântulas, provavelmente resultante de efeito residual. Porém essa omissão total repentina pode ter prejudicado o crescimento dos explantes devido à dependência gerada pela condição mixotrófica na qual a cultura está adaptada.

Esse comportamento pode ser atribuído à inibição de algum mecanismo enzimático envolvido na assimilação de carboidratos ou do aparato fotossintético ineficiente, característico do hábito heterotrófico das plântulas micropropagadas (INOUE, GRAÇA e CORREA, 1998).

Rodrigues et al. (2006), verificaram que a ausência de sacarose na micropropagação de macieira (*Malus domestica*), provocou a morte ou o atrofiamento dos explantes. Alguns autores sugerem a redução gradativa ao longo de sucessivos subcultivos, aliada ao fornecimento de carbono atmosférico através de adaptações na vedação dos frascos e melhoria nas condições luminosas para efetiva realização de fotossíntese.

4. CONCLUSÕES

Foi possível reduzir a concentração de sacarose de 30 g.L⁻¹ para 18 g.L⁻¹ no cultivo *in vitro* de teca, sem prejudicar o seu desenvolvimento.

A tampa plástica com filtro foi mais vantajosa para o cultivo da espécie.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BANDEIRA, J. M.; LIMA, C. S. M.; RUBIN, S.; RIBEIRO, M. V.; FALQUETO, A. R.; PETERS, J. A.; BRAGA, E. J. B. Diferentes tipos de vedação dos frascos e concentrações de sacarose na micropropagação de *Thymus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 472-474, jul. 2007.

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.

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; PERES, L. E. P. **Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática**. Piracicaba: Editora Agronômica Ceres, 2005. 650p.

DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M. W. Multiplicação fotoautotrófica de mirtilo através do uso de luz natural. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, 2008.

DIGNART, S. L. Luz e sacarose na micropropagação de *Cattleya walkeriana*: alterações anatômicas e fisiológicas. 2006. 132 f. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia) – UFLA, Lavras. 2006.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

GUIMARÃES, P. T. C.; PASQUAL, M.; MIRANDA, A. M. P. Efeito de diferentes concentrações de nitrogênio e de sacarose sobre a propagação *in vitro* de samambaia-espada [*Neprolepis exaltata* (L.) Schott]. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 2, p. 309-316, abr./jun., 1999.

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: Embrapa – SPI / Embrapa – CNPH, 1998, v. 1, p. 183-260.

GROUT, B. W. W. Photosynthesis of regenerated plantlets *in vitro* and the stresses of transplanting. **Acta Horticulturae**, Leuven, n. 230, p. 129-134, 1988.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. A.; GONÇALVES, A. N. Propagação vegetativa de *Eucalyptus*: princípios básicos e a sua evolução no Brasil. **Circular Técnica IPEF**, Piracicaba, n. 192, out. 2000.

INOUE, M. T.; GRAÇA, M. E. C.; CORREA, G. Capacidade fotossintética de plântulas micropropagadas e de mudas de *Eucalyptus tereticornis* SM. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 36, p.71-77, jan./jun. 1998.

KOK, R. *Tectona grandis* (teak). **Kew: Royal Botanic Gardens**, 2009.

LANGFORD, P. J.; WAINWRIGHT, M. Photosynthetic ability of *in vitro* grown rose shoots in relation to media components. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT TISSUE AND CELL CULTURES, 2., 1986, St. Paul, **Abstract...** St. Paul: University of Minnesota, 1986, 433 p. Abstracts.

MACEDO, R. L. G.; GOMES, J. E.; VENTURIN, N.; SALGADO, B. G. Desenvolvimento inicial de *Tectona grandis* L. F. (Teca) em diferentes espaçamentos no município de Paracatu, MG. **Cerne**, Lavras, v. 11, n. 1, p. 61-69, jan.-mar. 2005.

MOREIRA, B. M. T.; TOMBA, E. C.; ZONETTI, P. C. Crescimento *in vitro* de plântulas de orquídea (*Laelia purpurata* Lindl var *venosa* X *Cattleya warneri* T. Moore alba) sob diferentes concentrações de sacarose e frutose. **Sábios – Revista Saúde e Biologia**, Campo Mourão, v. 2, n. 2, p. 16-21, jul./dez., 2007.

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

NICOLOSO, F. T.; ERIG, A. C.; RUSSOWSKI, D.; MARTINS, C. F. Efeito de doses 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.

PASQUAL, M. **Introdução: Fundamentos básicos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 97 p., 2001.

PASQUAL, M; CHALFUN, N. N. J.; RAMOS, J. D. **Aplicações na propagação de plantas**. Lavras: UFLA/FAEPE, 97 p., 2001.

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. La Plata, 2006. **Resumos...** La Plata, INTA, 2006.

RIBEIRO, M. F.; DONINI, L. P.; SOUZA, J. A.; GUISSO, A. P.; FERREIRAMOURA, I.; BOBROWSKI, V. L.; VIÉGAS, J. Influência de diferentes concentrações de sais de MS e açúcares no cultivo *in vitro* de manjeriço roxo (*Ocimum basilicum* L). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 57-59, jul. 2007.

RIBEIRO, M. V.; LIMA, C. S. M.; BANDEIRA, J. M.; RUBIN, S.; BENITEZ, L. C.; PETERS, J. A.; BRAGA, E. J. B. Concentrações de sacarose e tipos de vedação no cultivo *in vitro* de *Melissa officinalis* L. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 843-845, jul. 2007.

RODRIGUES, M. M.; MELO, M. D.; ALOUFA, M. A. I. Propagação vegetativa *in vitro* e análise estrutural de macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.1, p.171-173, jan. 2006.

RODRIGUES, I. C. S.; RIBEIRO, M. V.; BRAGA, E. J. B. Multiplicação *in vitro* de *Alternanthera dentata* Moench em meio MS suplementado com diferentes concentrações de sacarose e BAP. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 16. Pelotas, 2007. **Resumos...** Pelotas, UFPEL, 2007.

SKREBSKY, E. C.; NICOLOSO, F. T.; FERRÃO, G. E. Sacarose e período de cultivo *in vitro* na aclimação *ex vitro* de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* Spreng. Pedersen). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1471-1477, set-out, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3 ed., Artmed, Porto Alegre, RS, 2004. 719 p.

VASCONCELOS, A. G. V. et al. Micropropagação de palma forrageira cv. Miúda (*Nopalea cochinillifera* – Salm Dyck). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 2, n. 1, p. 28-31, 2007.

CAPÍTULO III

USO DE SACAROSE E ÁCIDO INDOLBUTÍRICO NO ENRAIZAMENTO

ex vitro DE TECA (*Tectona grandis* L.f.)

RESUMO

As plantas produzidas *in vitro* passam de um estado com alta disponibilidade nutricional para a etapa de aclimação e endurecimento, sendo assim, precisam formar raízes rapidamente para absorver os nutrientes necessários à sua sobrevivência. Portanto, o objetivo do trabalho foi testar a sacarose e o ácido indolbutírico (AIB) no enraizamento de teca. O delineamento experimental foi em blocos casualizados em esquema fatorial 2 X 2 x 5, considerando as duas formas de cultivo *in vitro*, a presença e ausência de sacarose, e as cinco concentrações de AIB (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mg.L⁻¹), totalizando vinte tratamentos com seis repetições. As microestacas tiveram suas bases imersas nas soluções, e em seguida foram plantadas nos tubetes com substrato a base de casca de pinus bioestabilizada. O experimento foi dividido em três fases: casa de vegetação, casa de sombra e pleno sol. Foram avaliados: comprimento da parte aérea (cm), diâmetro do colo (cm) e peso da matéria fresca (mg). Houve interação entre cultivo e sacarose apenas na casa de vegetação (primeira avaliação) para as três variáveis analisadas. A concentração de AIB não apresentou diferença entre as avaliações e o uso de sacarose mostrou-se necessário principalmente quando houve redução no cultivo *in vitro*.

Palavras-chave: aclimação, AIB, raízes

CHAPTER III

USE OF SUCROSE AND IBA IN ex vitro ROOTING OF TEAK (Tectona grandis L.f.)

ABSTRACT

The plants produced in vitro are a state with a high availability of nutrients to step acclimatization and hardening, so need to form roots quickly absorb the nutrients necessary for their survival. Therefore, the objective was to test the sucrose and butyric acid (IBA) on rooting of teak. The experimental design was completely randomized in a factorial 2 x 2 x 5, considering the two forms of in vitro, the presence and absence of sucrose, and the five IBA concentrations (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 and 2,0 mg.L⁻¹), totaling twenty treatments with six replications. The microcuttings had their bases immersed in the solutions, and then were planted in tubes with the base substrate of pine bark. The experiment was divided into three phases: a greenhouse, shade and full sun. Were evaluated: shoot length (cm), diameter (cm) and fresh weight (mg). There was an interaction between culture and sucrose only in the greenhouse (first test) for the three variables. The IBA concentration showed no difference between the evaluations and the use of sucrose was shown to be necessary especially when there was a reduction in vitro.

Keywords: acclimatization, IBA, roots

1. INTRODUÇÃO

A teca (*Tectona grandis* L.f.) é espécie florestal exótica de grande porte que adaptou-se muito bem a algumas regiões do Brasil onde as condições climáticas se assemelham aquelas encontradas nos países de origem, inclusive apresenta valor econômico mais elevado em comparação ao mogno amazônico (ANGELI e STAPE, 2003).

No Brasil, seu cultivo iniciou-se ao final da década de 60, sendo implantado pela empresa Cáceres Florestal S.A., no município de Cáceres - MT (MATRICARDI, 1989). O reflorestamento em escala comercial ocorreu a partir de 1971 (CALDEIRA e OLIVEIRA, 2008). Em 1968, com o propósito de assegurar a disponibilidade sustentada de madeira para sua indústria, a empresa deu início a pesquisa e experimentação do reflorestamento. Foram testadas diversas espécies nativas e exóticas, com destaque para o mogno. Todavia, o mogno, mostrou ser uma planta sensível, de difícil estabelecimento e condução (CÁCERES FLORESTAL, 2005).

Dentre as técnicas de produção de mudas a micropropagação ou propagação *in vitro* mostrou-se satisfatória, pois permite a produção massal de indivíduos com características genéticas desejáveis e alto padrão de sanidade das mudas, em um curto período de tempo (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

A cultura de tecidos vegetais envolve um processo no qual pequenos fragmentos de tecido vivo (chamados de explantes), são isolados, desinfestados e cultivados assepticamente, por períodos indefinidos num meio de cultura apropriado (ANDRADE, 2002).

Na etapa de transplântio a planta é submetida a uma fase de aclimação e endurecimento. Essa passagem é considerada crítica e representa, em alguns casos, um fator limitante do processo de clonagem vegetal (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). A aclimação é o processo pelo qual as plântulas produzidas em condições controladas são transferidas para um ambiente com condições naturais. As plântulas são expostas à redução de umidade do ar e temperatura instável, a fim de que

possam suportar a transferência para o novo substrato e, posteriormente, sobreviver e se desenvolver sem complicações em condições naturais de campo (SILVA et al., 1995).

As plantas produzidas *in vitro* passam de um estado com alta disponibilidade nutricional para uma condição autotrófica, portanto precisam formar raízes rapidamente, para absorver os nutrientes necessários à sua sobrevivência. Como forma de otimizar o processo de micropropagação, a etapa de enraizamento *in vitro* pode ser substituída por um enraizamento *ex vitro*, no qual as partes aéreas produzidas são manipuladas como microestacas. O enraizamento *ex vitro* é desejável do ponto de vista econômico, pois há economia de espaço na sala de crescimento, energia elétrica e meio de cultura. Além disso, proporciona a produção de um sistema radicular mais completo e funcional, evitando assim, a manipulação de plantas com raiz nua, ou a poda de raízes, que são práticas que muitas vezes resultam em má qualidade do transplântio e até a morte das plântulas (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

Para acelerar a emissão de raízes, as bases das microestacas podem ser tratadas em soluções contendo auxina (regulador de crescimento que favorece a rizogênese). Conforme Vale et al. (2008), a presença de sacarose na solução de auxina, representa uma fonte de energia necessária à divisão celular e emissão de raízes adventícias.

A importância dos carboidratos na emissão e formação de raízes vem sendo atualmente bem discutida. Reservas abundantes de carboidratos podem estar correlacionadas com maiores porcentagens de enraizamento e sobrevivência das plantas (FACHINELLO et al., 1995).

O mecanismo pelo qual a fonte e a concentração de carboidratos influenciam no processo de aclimatização, não está claro. Por isso, os níveis de sacarose devem ser mantidos em torno de 3%, pois dessa forma, a planta acumularia reservas de carboidratos como fonte de energia para sobreviver no período de aclimatização. Para obter sucesso no desenvolvimento das plântulas, é necessário observar as concentrações do açúcar, pois estas influenciam diretamente nas reações fisiológicas das plantas (MOREIRA et al., 2007).

Diversos estudos evidenciam que doses elevadas de sacarose afetam de maneira considerável o desempenho fotossintético das plantas na transferência para o ambiente natural, ao passo que a ausência desse carboidrato é citada como a causa de elevadas taxas de mortalidade das plantas nessas condições (MALDANER et al., 2007).

Pio et al. (2003), constataram que a presença de sacarose diluída nas soluções de AIB no enraizamento de estacas apicais de figueira (*Ficus carica*), favoreceu o incremento da massa seca, na concentração de 2000 mg.L⁻¹ de AIB e 2% de sacarose. Este resultado superou a melhor concentração de AIB de 4000 mg.L⁻¹ sem utilização de sacarose, mostrando a possibilidade de utilização de uma concentração menor de auxina, fato esse considerado extremamente excepcional, pois do ponto de vista econômico, isso significa uma redução no custo final das mudas.

Enfim, a partir das informações expostas, observa-se que é crescente a preocupação com relação tanto à qualidade quanto ao custo das mudas produzidas por meio da micropropagação. Pesquisas são desenvolvidas buscando mudanças no ambiente de cultivo *in vitro* que visam à indução de um maior grau de autotrofia dos tecidos vegetais para uma melhor adaptação e menor mortalidade na fase de transplântio das plântulas produzidas.

Portanto o objetivo do trabalho foi testar o uso de sacarose e as diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) no enraizamento *ex vitro* de teca.

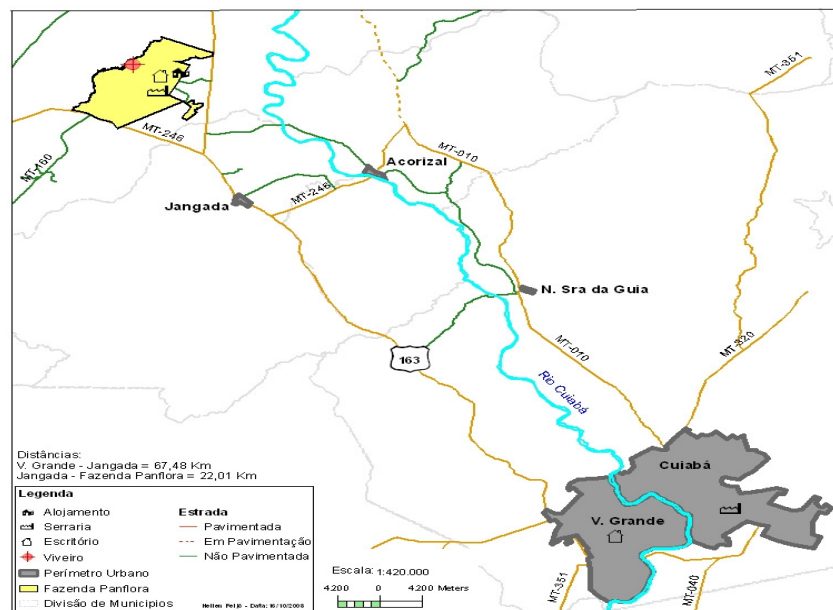
2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado e conduzido no viveiro da Fazenda Panflora (Figura 4), pertencente à empresa Floresteca Agroflorestal S/A, situada no município de Jangada, Estado de Mato Grosso, no período de julho a setembro de 2011.

A fazenda Panflora está inserida dentro do bioma Cerrado; geologicamente, está localizada na Depressão Cuiabana, área rebaixada,

de altitude de aproximadamente 250 metros acima do nível do mar. O clima da região apresenta períodos de chuva (outubro/novembro a abril/maio) e seca (abril/maio a setembro/outubro) bem definidos (FLORESTECA, 2008).

FIGURA 4 - MAPA DE LOCALIZAÇÃO DO VIVEIRO.



(FONTE: FLORESTECA, 2008)

A produção da mudas *in vitro* foi realizada no laboratório Bioteca Ltda. (situado no município de Várzea Grande, Mato-Grosso – Brasil). As plântulas foram cultivadas por 35 dias em dois tipos de cultivo sendo, cultivo 1 (C1) com 18 g.L⁻¹ de sacarose e tampa com filtro e cultivo 2 (C2) com 30 g.L⁻¹ de sacarose e tampa sem filtro. Foram repicados 150 frascos contendo 12 explantes, sendo 75 frascos para cada tipo de cultivo, totalizando 1800 plântulas.

Após o período de crescimento, as mudas foram preparadas para o envio ao viveiro. Primeiramente as plantas foram retiradas dos frascos e tiveram seus calos removidos com auxílio de uma tesoura, em seguida foram acondicionadas em caixas plásticas com 15 cm X 25 cm forradas com papel toalha, molhadas com água destilada e forradas novamente com papel para permanecerem úmidas. As caixas foram separadas e identificadas de acordo com o cultivo.

No viveiro, os dois cultivos (C1 e C2) foram submetidos à presença/ausência de sacarose, diluída a 2% na solução do hormônio, e as cinco concentrações de AIB (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 g.L⁻¹) (Tabela 3).

TABELA 3 - DISTRIBUIÇÃO DAS MUDAS ENTRE OS TRATAMENTOS TESTADOS NO VIVEIRO, NO MUNICÍPIO DE JANGADA, ESTADO DE MATO GROSSO.

Cultivo	Sacarose	Concentração da auxina (AIB)	Total de plantas
C1 e C2	Presença de sacarose (PS)	0,0 mg.L ⁻¹	180
		0,5 mg.L ⁻¹	180
		1,0 mg.L ⁻¹	180
		1,5 mg.L ⁻¹	180
		2,0 mg.L ⁻¹	180
C1 e C2	Ausência de sacarose (AS)	0,0 mg.L ⁻¹	180
		0,5 mg.L ⁻¹	180
		1,0 mg.L ⁻¹	180
		1,5 mg.L ⁻¹	180
		2,0 mg.L ⁻¹	180

O experimento foi organizado em 20 tratamentos e 6 blocos, sendo que cada parcela experimental foi composta por 15 plantas.

As plântulas produzidas *in vitro* foram tratadas nesta fase de aclimação como microestacas. Sendo assim, as microestacas tiveram suas bases imersas nas soluções contendo AIB acrescidas ou não de sacarose, por cinco segundos e em seguida foram plantadas nos tubetes contendo substrato. Cada tubete foi preenchido com 56 cm³ de substrato a base de casca de pinus bioestabilizada.

No processo de aclimatização *ex vitro*, as plântulas passaram por três fases:

- Casa de vegetação: com sistema de irrigação por nebulização e temperatura média de 35 a 40 °C, na qual ficaram 20 dias;
- Casa de sombra: com sistema de irrigação por aspersão e temperatura média de 30 a 35 °C, na qual ficaram por mais 15 dias;

- Pleno sol: com sistema de irrigação por microaspersores e temperatura média de 35 a 40 °C, por 50 dias.

Ao final de cada uma dessas fases, foram retiradas 5 plântulas de cada tratamento nos 6 blocos, para a avaliação das seguintes variáveis: comprimento da parte aérea (cm), diâmetro do colo (cm) e peso da matéria fresca (mg). Para as medições foi utilizado um paquímetro digital e para a pesagem foi utilizada uma balança semi-analítica (marca BEL, modelo Mark 3500).

O delineamento experimental foi em blocos casualizados em esquema fatorial 2 X 2 x 5, considerando as duas formas de cultivo *in vitro*, a presença e ausência de sacarose, e as cinco concentrações de AIB, totalizando vinte tratamentos com seis repetições.

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância e em seguida ao teste de médias. Para a comparação das médias entre os tratamentos foi utilizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Toda a análise foi realizada utilizando-se o programa computacional Sistema para Análise de Variância - SISVAR (FERREIRA, 2000).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na fase de aclimação e enraizamento houve divisão na avaliação entre as três etapas pelas quais as plântulas foram submetidas, sendo: casa de vegetação, casa de sombra e exposição a pleno sol. O levantamento de dados ocorreu na troca de um ambiente para o outro. Houve enraizamento em todos os tratamentos testados.

De acordo com o resumo da análise de variância da primeira avaliação, houve interação significativa entre a sacarose (ausência e presença) e os cultivos (C1 e C2) para as três variáveis: comprimento de plântulas (cm), diâmetro do colo (cm) e peso da matéria fresca (mg). Porém, não houve essa interação com as concentrações de AIB, que também não apresentaram diferença quando analisadas separadamente (Tabela 4)

TABELA 4 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA COMPRIMENTO, DIÂMETRO DO COLO E MATÉRIA FRESCA EM MUDAS DE TECA NA CASA DE VEGETAÇÃO (AVALIAÇÃO 1), NO MUNICÍPIO DE JANGADA, ESTADO DE MATO GROSSO.

F.V.	GL	Comprimento	Diâmetro do colo	Peso da matéria fresca
Bloco	5	0,77 ^{ns}	16,15 ^{**}	0,92 ^{ns}
Cultivo (C)	1	2,63 ^{ns}	18,88 ^{**}	0,10 ^{ns}
Sacarose (S)	1	1,78 ^{ns}	0,001 ^{ns}	1,48 ^{ns}
AIB (A)	4	0,13 ^{ns}	0,36 ^{ns}	1,57 ^{ns}
S x C	1	6,29 [*]	5,14 [*]	13,45 ^{**}
A x C	4	0,39 ^{ns}	1,03 ^{ns}	1,77 ^{ns}
A x S	4	0,60 ^{ns}	0,54 ^{ns}	0,36 ^{ns}
A x S x C	4	0,50 ^{ns}	0,10 ^{ns}	0,22 ^{ns}
Resíduo	95			
CV (%)		12,485	31,753	34,438

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade

^{ns} Não Significativo

Como com relação ao uso de AIB não houve diferença significativa entre as doses testadas, provavelmente esta espécie possui níveis endógenos de auxina suficientes para realizar o enraizamento.

Resultado semelhante foi encontrado por Bosa et al. (2003), que ao testar o efeito de AIB em cravo-de-amor (*Gypsophila paniculata*), observou que não houve influência das doses do regulador de crescimento para nenhuma das variáveis estudadas. Além disso, Augusto et al. (2006) ao testar o enraizamento de amoreira-preta, mostraram que a imersão em solução com e sem a presença de AIB apresentaram os mesmos resultados para a altura da parte aérea.

Fermino Júnior et al. (2011), verificaram crescimento relativo do caule de teca com o uso de AIB independente da concentração (0, 100, 1000, 2000 e 4000 mg.L⁻¹), sendo que o aumento da dose não influenciou no comprimento das plântulas.

Vários autores descrevem a necessidade da utilização de auxinas no enraizamento de espécies cultivadas *in vitro*. Neste caso o que se pode constatar é que não houve diferença entre as concentrações de AIB testadas, inclusive a ausência (0 mg.L⁻¹) não afetou a adaptação ao ambiente natural. Essa ocorrência provavelmente, se deve à facilidade de enraizamento da espécie, conclusão também encontrada por Augusto et al. (2006).

Conforme Assis e Teixeira (1998), existem várias evidências de que a rizogênese é geneticamente controlada, isso pode ser observado entre espécies, cultivares e clones e está relacionado a habilidade natural de formação de raízes.

Para a variável comprimento (cm), a presença de sacarose mostrou-se melhor no C1 e a ausência, no C2, conforme apresentado na Tabela 5.

TABELA 5 – COMPRIMENTO (cm) DE MUDAS DE TECA SUBMETIDAS A DIFERENTES CULTIVOS *in vitro* E AUSÊNCIA/PRESENÇA DE SACAROSE.

Sacarose	Cultivo	
	C1	C2
Presença	52,58 Aa*	47,78 Ba
Ausência	51,22 Ab	52,24 Aa

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas referem-se às colunas e letras minúsculas, às linhas. C1= cultivo 1 e C2= cultivo 2.

Observou-se que a adição de sacarose foi necessária no cultivo no qual houve redução desse nutriente e dispensada no cultivo convencional, independente da concentração de AIB.

O estado nutricional exerce grande influência no enraizamento, uma vez que o processo de iniciação radicular requer energia. A maior influência dos carboidratos está ligada à relação carbono/nitrogênio, portanto a aplicação exógena de açúcares e amido pode favorecer essa relação (ASSIS e TEIXEIRA, 1998).

Em um experimento com figueira (*Ficus carica*), Pio et al. (2003) encontraram melhores resultados para a variável massa seca das

brotações quando se utilizou a sacarose 2% diluídas em 2000 mg.L⁻¹ de AIB, observaram ainda ter ocorrido redução da melhor concentração de AIB sem a utilização de sacarose (4000 mg L⁻¹). Esse resultado mostrou que é possível reduzir as concentrações de AIB ao utilizar sacarose na solução, contribuindo na redução do custo final das mudas.

Os melhores resultados para o diâmetro do colo (cm) foram obtidos na presença de sacarose para os dois cultivos e a ausência, no C2 (Tabela 6).

TABELA 6 – DIÂMETRO DO COLO (cm) DE MUDAS DE TECA SUBMETIDAS A DIFERENTES CULTIVOS *in vitro* E AUSÊNCIA/PRESENÇA DE SACAROSE.

Sacarose	Cultivo	
	C1	C2
Presença	0,60 Aa*	0,68 Aa
Ausência	0,51 Ab	0,76 Aa

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas referem-se às colunas e letras minúsculas, às linhas. C1= cultivo 1 e C2= cultivo 2.

De maneira similar observou-se que a adição de sacarose foi necessária no C1 (0,60 cm), porém dessa vez, também foi importante no C2 (0,68 cm), que ainda respondeu de maneira satisfatória na ausência de sacarose (0,76 cm), todos independentes da concentração de AIB.

Para a formação de raízes é necessário energia que pode ser oriunda da fotossíntese ou de outra fonte de açúcar. O carbono exógeno no meio de cultivo serve como fonte de energia, influenciando na fisiologia da planta, diferenciação e crescimento dos tecidos e órgãos. Além disso, vale ressaltar que altas concentrações de sacarose no cultivo *in vitro* favorece o acúmulo de carboidratos no tecido devido à síntese reduzida dos açúcares (CALVETE et al., 2002).

A presença de sacarose na solução de AIB provavelmente foi necessária para complementar o fornecimento de energia utilizada no enraizamento.

Para a variável matéria fresca (mg), novamente a presença de sacarose mostrou-se melhor no C1, e a ausência no C2, conforme apresentado na Tabela 7.

TABELA 7 – PESO DA MATÉRIA FRESCA (mg) DE MUDAS DE TECA SUBMETIDAS A DIFERENTES CULTIVOS *in vitro* E AUSÊNCIA/PRESENÇA DE SACAROSE.

Sacarose	Cultivo	
	C1	C2
Presença	0,69 Aa*	0,53 Bb
Ausência	0,59 Ab	0,73 Aa

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Letras maiúsculas referem-se às colunas e letras minúsculas, às linhas. C1= cultivo 1 e C2= cultivo 2.

Este resultado foi semelhante ao comprimento da parte aérea e também ao diâmetro do colo, cujos resultados mostraram que os dois tratamentos trouxeram benefícios para o desenvolvimento em todas as variáveis analisadas.

A concentração menor de sacarose no C1 fez com que as plântulas necessitassem de uma fonte externa para complementar a energia necessária para o seu desenvolvimento, no C2 (convencional), a quantidade de açúcar fornecido *in vitro* mostrou-se suficiente para o acúmulo de reservas.

Possivelmente, o acréscimo da concentração de CO₂ que foi proporcionado no C1 através da vedação com filtro, promoveu o aumento da fotossíntese, em função de seu efeito direto sobre a enzima Rubisco (Ribulose 1,5 difosfato carboxilase) (ARIGITA et al., 2002). Com isso houve maior gasto de energia, e provavelmente explica a necessidade de complementar com sacarose exógena na aclimatação.

De acordo com o resumo da análise de variância na segunda avaliação, não houve interação significativa entre os fatores testados. Separadamente o cultivo (C1 e C2), apresentou diferença estatística para o comprimento (cm) e diâmetro do colo (cm), e a sacarose (ausência e presença), para a variável peso da matéria fresca (mg). Além disso,

novamente não foi observada diferença entre as concentrações de AIB (Tabela 8).

TABELA 8 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA COMPRIMENTO, DIÂMETRO DO COLO E MATÉRIA FRESCA EM MUDAS DE TECA NA CASA DE SOMBRA (AVALIAÇÃO 2), NO MUNICÍPIO DE JANGADA, ESTADO DE MATO GROSSO.

F.V.	GL	Comprimento	Diâmetro do colo	Peso da matéria fresca
Bloco	5	8,65 **	4,48 **	12,61 **
Cultivo (C)	1	4,87 **	5,44 *	0,01 ^{ns}
Sacarose (S)	1	1,86 ^{ns}	0,31 ^{ns}	6,12 **
AIB (A)	4	1,50 ^{ns}	0,59 ^{ns}	0,33 ^{ns}
S x C	1	0,04 ^{ns}	0,001 ^{ns}	0,94 ^{ns}
A x C	4	0,61 ^{ns}	0,35 ^{ns}	0,14 ^{ns}
A x S	4	0,19 ^{ns}	0,43 ^{ns}	0,45 ^{ns}
A x S x C	4	0,71 ^{ns}	0,35 ^{ns}	1,25 ^{ns}
Resíduo	95			
CV (%)		11,765	14,666	29,753

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade

^{ns} Não Significativo

Na segunda avaliação não houve interação significativa para nenhum dos fatores analisados. Analisando separadamente o cultivo apresentou diferença no comprimento e diâmetro do colo e a sacarose para o peso da matéria fresca.

De acordo com a Tabela 9, o melhor resultado para o comprimento foi obtido no cultivo 1 e para o diâmetro do colo no cultivo 2.

TABELA 9 – COMPRIMENTO (cm) E DIÂMETRO DO COLO (cm) DE MUDAS DE TECA SUBMETIDAS A DIFERENTES CULTIVOS *in vitro*.

Cultivo	Variáveis	
	Comprimento (cm)	Diâmetro do colo (cm)

C1	62,02 A*	1,92 B
C2	59,15 B	2,04 A

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. C1= cultivo 1 e C2= cultivo 2.

Apesar de cada tipo de cultivo ter apresentado melhor resultado em cada variável diferente, vale ressaltar que apesar do C1 ter menor concentração de sacarose, ele é oriundo de um cultivo convencional assim como o C2, e provavelmente existiam reservas armazenadas.

A quantidade de sacarose no cultivo *in vitro* afeta a produção de metabólitos secundários de grande importância nos processos metabólicos e na composição da parede celular (PASQUAL, 2001), sendo essencial ao crescimento.

De acordo com Skrebsky et al. (2004), a nutrição exclusivamente autotrófica, induzida *in vitro*, nem sempre conduz a um melhor crescimento das plantas quando comparado com aquele obtido em um meio de cultivo contendo sacarose. Esses autores afirmam que diversas pesquisas comprovam que há influência positiva da sacarose no crescimento das plantas mesmo que se tenha enriquecido o ambiente com CO₂.

Para a variável matéria fresca (mg), a ausência de sacarose mostrou-se melhor para o crescimento nessa fase (Tabela 10).

TABELA 10 – PESO DA MATÉRIA FRESCA (mg) DE MUDAS DE TECA SUBMETIDAS A PRESENÇA/AUSÊNCIA DE SACAROSE.

Sacarose	Peso (mg)
Presença	0,85 B
Ausência	0,98 A

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A ausência de sacarose mostrou-se superior para a formação de matéria fresca das plântulas em comparação ao tratamento utilizando sacarose exógena. Provavelmente a reserva de carboidratos nos tecidos estava mais elevadas nessa fase devido à realização de fotossíntese.

Ao contrário do encontrado por Pio et al. (2003), que observou que a presença de sacarose exógena proporcionou melhores resultados em figueira para as variáveis comprimento da maior raiz (6,49 cm) e massa seca das raízes (157,13 mg).

Dentre os fatores que podem influenciar o enraizamento e posterior desenvolvimento, estão tanto os intrínsecos, relacionados à própria planta, quanto os extrínsecos, relacionados às condições ambientais (NORBERTO et al., 2001).

As condições internas da planta podem ser traduzidas pelo balanço hormonal entre inibidores, promotores e co-fatores relacionados ao enraizamento, que interferem na emissão e crescimento das raízes SANTOS (1994).

Na terceira avaliação, realizada ao final do período de rustificação não houve diferença significativa em nenhum dos fatores testados para nenhuma das variáveis analisadas (Tabela 11).

TABELA 11 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA COMPRIMENTO, DIÂMETRO DO COLO E MATÉRIA FRESCA EM MUDAS DE TECA NO PLENO SOL (AVALIAÇÃO 3), NO MUNICÍPIO DE JANGADA, ESTADO DE MATO GROSSO.

F.V.	GL	Comprimento	Diâmetro do colo	Peso da matéria fresca
Bloco	5	6,81 **	8,07 **	5,20 *
Cultivo (C)	1	0,66 ^{ns}	2,13 ^{ns}	0,14 ^{ns}
Sacarose (S)	1	1,42 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,16 ^{ns}
AIB (A)	4	0,52 ^{ns}	0,57 ^{ns}	0,98 ^{ns}
S x C	1	0,16 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,74 ^{ns}
A x C	4	0,60 ^{ns}	1,08 ^{ns}	0,49 ^{ns}
A x S	4	2,04 ^{ns}	1,78 ^{ns}	1,00 ^{ns}
A x S x C	4	1,87 ^{ns}	0,99 ^{ns}	0,60 ^{ns}
Resíduo	95			
CV (%)		8,2041	8,1801	21,854

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade

^{ns} Não Significativo

Esses resultados mostraram que o cultivo *in vitro*, os efeitos da imersão ou não no regulador de crescimento AIB independente da dose, bem como o uso ou não de sacarose têm influência apenas nas etapas iniciais do processo de aclimação, período crítico no qual a plântula sofre as mudanças bruscas pelo transplante do ambiente *in vitro* para o *ex vitro*.

Segundo Grattapaglia e Machado (1998), a rizogênese ocorre no período de uma a três semanas, e pode ser dividida em: indução, iniciação e alongamento de raízes. Afirmaram ainda, que as duas primeiras fases respondem ou dependem da presença da auxina, sendo que no crescimento pode haver inibição em relação à presença do regulador.

Ainda segundo Castro et al. (2005), aplicações exógenas de auxina podem promover a iniciação e o desenvolvimento radicular precoce. Todavia, as mesmas concentrações que ajudam a estimular o surgimento das raízes, podem inibir seu posterior crescimento.

Muitos estudos abordam a fase crítica do transplante, porém existe carência com relação a trabalhos sobre o período completo da aclimação ao endurecimento de mudas produzidas através da micropropagação, é importante a comparação de experiências que mostram as dificuldades e soluções que podem ser encontradas nesse processo.

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nas condições em que o presente trabalho foi realizado, permitiram concluir:

- As concentrações de AIB não tiveram diferença em nenhuma das fases analisadas, o que sugere que outros fatores podem influenciar o enraizamento e adaptação *ex vitro*.

- A interação entre a sacarose e o tipo de cultivo, mostraram efeito apenas na primeira fase do experimento, em casa de vegetação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, S. R. M. **Princípios da cultura de tecidos vegetais**. Planaltina, Embrapa Cerrados, 2002, 16 p.

ANGELI, A.; STAPE, J. L. **Identificação de espécies florestais: *Tectona grandis* (teca)**. Piracicaba: Copyright 2004, IPEF, 2003.

ARIGITA, L.; GONZÁLEZ, A.; TAMÉS, R. S. Influence of CO₂ and sucrose on photosynthesis and transpiration of *Actinidia deliciosa* explants cultured *in vitro*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 115, p. 166-173, 2002.

ASSIS, T. F.; TEIXEIRA, S. L. Enraizamento de plantas lenhosas. In: TORRES, A.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/ Embrapa CNPH, 1998. v. 1, p. 261-296.

AUGUSTO, C. S. S.; BIASI, L. A.; TELLES, C. A. Enraizamento e aclimatização de plantas micropropagadas de amoreira-preta cv. Brazos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP, v. 28 n. 3, p. 473-476, dez. 2006.

BOSA, N.; CALVETE, E. O.; NIENOW, A. A.; SUZIN, M. Enraizamento e aclimatização de plantas micropropagadas de gipsófila. **Horticultura Brasileira**, Brasília, vol. 21 n. 2, Abr./Jun. 2003.

CÁCERES FLORESTAL S/A. **Plano de manejo florestal sustentável** – Resumo. Dez. 2005.

CALDEIRA, S. F.; OLIVEIRA, D. L. C. Desbaste seletivo em povoamentos de *Tectona grandis* com diferentes idades. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 38, n. 2, 2008.

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.

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; PERES, L. E. P. **Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática**. Piracicaba: Editora Agronômica Ceres, 650 p., 2005.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G. R. L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2 ed. Pelotas: UFPel, 1995, 178 p.

FERMINO JUNIOR, P. C. P.; RAPOSO, A.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. Enraizamento *ex vitro* e aclimação de plantas micropropagadas de *Tectona grandis*. **FLORESTA**, Curitiba, PR, v. 41, n. 1, p. 79-86, jan./mar. 2011.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FLORESTECA. **Resumo do plano de manejo Floresteca**. Revisão em 2008.

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: Embrapa – SPI / Embrapa – CNPH, 1998, v. 1, p. 183-260.

MALDANER, J.; NICOLOSO, F. T.; SANTOS, E. S.; FAGUNDES, C. K.; FLORES, R.; JUCOSKI, G. O.; SKREBSKY, E. C. Crescimento de plântulas de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen cultivadas *in vitro* sob dois níveis de nitrogênio e sacarose, durante seis subculturas sucessivas e aclimação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 1, jan./fev. 2007.

MATRICARDI, W. A. T. Efeito dos fatores do sobre o desenvolvimento da teca (*Tectona grandis* L.F.) cultivada em grande Cáceres- Mato Grosso. 1989. 135p. **Dissertação** (Mestrado- Ciências Florestais) ESALQ - Escola Superior Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1989.

MOREIRA, B. M. T.; TOMBA, E. C.; ZONETTI, P. C. Crescimento *in vitro* de plântulas de orquídea (*Laelia purpurata* Lindl var *venosa* X *Cattleya warneri* T. Moore alba) sob diferentes concentrações de sacarose e frutose. **Sábios – Revista Saúde e Biologia**, Campo Mourão, v. 2, n. 2, p. 16-21, jul./dez., 2007.

NORBERTO, P. M.; CHALFUN, N. N. J.; PASQUAL, M.; VEIGA, R. L.; PEREIRA, G. E.; MOTA, J. H. Efeito da época de estaquia e do AIB no enraizamento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 3, p. 533-541, maio/jun. 2001.

PASQUAL, M. **Introdução: Fundamentos básicos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001, 97 p.

PIO, R.; RAMOS, J. D.; CHALFUN, N. N. J.; COELHO, J. H. C.; GONTIJO, T. C. A.; CARRIJO, E. Enraizamento de estacas apicais de

figueira tratadas com sacarose e ácido indolbutírico por imersão rápida. **Revista Brasileira Agrociência**, v. 9, n. 1, p. 35-38, jan-mar, 2003.

SANTOS, S. C. Efeitos de épocas de poda sobre a produção e qualidade dos frutos da figueira (*Ficus carica* L.), cultivada em Selvíria-MS. Ilha Solteira, 1994. 50p. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de São Paulo.

SILVA, A. T.; PASQUAL, M.; ISHIDA, J. S.; ANTUNES, L. E. C. Aclimação de plantas provenientes da cultura *in vitro*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 01, p. 49-53, jan. 1995.

SKREBSKY, E. C.; NICOLOSO, F. T.; FERRÃO, G. E. Sacarose e período de cultivo *in vitro* na aclimação *ex vitro* de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* Spreng. Pedersen). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1471-1477, set-out, 2004.

VALE, M. R.; CHALFUN, N. N. J.; MENDONÇA, V.; MIRANDA, C. S.; COELHO, G. V. A. Ácido indolbutírico e sacarose no enraizamento de estacas de goiabeira Cultivar Paluma. **Caatinga (Mossoró Brasil)**, v. 21, n. 3, p. 69-74, jun./ago. 2008.

CONCLUSÕES GERAIS

De acordo com os resultados obtidos nos dois experimentos realizados, pode-se concluir que:

- Para o cultivo *in vitro* de teca foi possível reduzir a concentração de sacarose de 30 g.L⁻¹ para 18 g.L⁻¹;
- A tampa plástica com filtro teve melhores resultados em relação a tampa comum, mostrando que o fornecimento de CO₂ pode ter contribuído de maneira positiva no período de crescimento *in vitro*.
- Na aclimação as concentrações de AIB não tiveram diferença em nenhuma das fases analisadas;