

EFEITO DE AIA E BAP NA MULTIPLICAÇÃO DE EUCALYPTUS UROGRANDIS

TÂNIA REGINA BATISTA¹, EVÂNIA GALVÃO MENDONÇA²; VANESSA STEIN³, LUCIANO VILELA PAIVA⁴, BRENO RÉGIS SANTOS⁵

RESUMO

A área de florestas com eucalipto está em franca expansão na maioria dos estados brasileiros com tradição na silvicultura deste grupo de espécies, ou em estados considerados como novas fronteiras da silvicultura. Entre os aspectos mais relevantes para tal expansão estão o rápido crescimento em ciclo de curta rotação, a alta produtividade florestal e a expansão e direcionamento de novos investimentos por parte de empresas de segmentos que utilizam sua madeira como matéria prima em processos industriais. Em particular, o segmento de celulose e papel têm sido a alavanca do crescimento nas áreas plantadas. Neste sentido, com o intuito de melhorar o processo de obtenção de mudas em larga escala objetivou-se, neste trabalho, estabelecer um protocolo de multiplicação de *Eucalyptus urograndis* clone . Os experimentos foram realizados no Laboratório Central de Biologia Molecular onde explantes nodais foram excisados em câmara de fluxo laminar e inoculados em frascos contendo 50 mL de meios de cultura EMBRAPA acrescido de diferentes combinações dos reguladores de crescimento AIA (0, 1, 2mgL⁻¹) e BAP (0; 0,04; 0,08; 0,16mgL⁻¹). O experimento foi conduzido em sala de crescimento, a 27±2°C, e fotoperíodo de 16 horas. A avaliação visual foi realizada após 30 dias de inoculação, nesta foram observadas o número de brotações por explante e o tamanho da maior brotação. Analisando-se os resultados estatísticos obtidos, conclui-se que o tratamento que apresentava a combinação de meio EMBRAPA acrescido de 2mgL⁻¹ AIA + 0,16mgL⁻¹ BAP foi o que apresentou melhor resultado.

Palavras-chaves: micropropagação, clones, eucalipto.

INTRODUÇÃO

O gênero *Eucalyptus*, pertencente à família Myrtaceae, é composto por mais de 700 espécies (Sharma, 2006) distribuídas pelas mais variadas condições ambientais, tanto em termos de precipitação quanto de temperatura. Proveniente da Austrália, foi introduzido no Brasil em 1868 nos estados do Rio Grande do Sul e Rio de Janeiro (Silveira, 2004)

Segundo Dossa et al. (2002), a produtividade do eucalipto pode ser considerada como um dos principais fatores que determinam sua expansão no mercado de papel, carvão, celulose e, serraria. Atualmente, existem plantios de eucaliptos melhor adaptados que atingem rendimentos próximos a 60 m³/ha ano, dados expressivos se comparados à espécies nativas utilizadas anteriormente para os mesmos fins.

No ano de 2009, a área total de florestas plantadas de eucalipto atingiu 6.310.450 ha, apresentando um crescimento de 2,5 % em relação ao total de 2008, este foi considerado modesto tendo em vista o crescimento médio anual de 5,5 % no período de 2005 a 2008. Essa redução da taxa

¹ Mestranda em Fisiologia Vegetal, DBI/UFLA, taniareginabatista@hotmail.com

² Doutoranda em Fisiologia Vegetal, DBI/UFLA, evaniafloresta@hotmail.com

³ Professora Adjunta, DBI/UFG, vanessa.stein@hotmail.com

⁴ Professor Associado, DQI/UFLA, luciano@ufla.br

⁵ Professor Adjunto, DCBT/UNIFAL-MG, brsantos@yahoo.com.br

de crescimento das áreas de florestas plantadas com eucalipto em 2009, decorreu da crise financeira internacional que afetou a economia mundial, reduzindo significativamente a demanda dos mercados compradores dos produtos das cadeias produtivas baseadas em madeira originária de florestas de eucalipto (ABRAF, 2009).

A associação mineira de Silvicultura destaca que, em 2009, no Brasil foram produzidos 40% do total de carvão vegetal, o qual se destinou à produção de ferro gusa, aço, ferro ligas, e silício metálico. Por sua vez, o país consumiu cerca de 34 milhões de m³ desse insumo (AMS, 2010). O estado de Minas Gerais figura como maior produtor e consumidor, pois possui o maior parque siderúrgico a carvão vegetal do mundo, o que contribui de forma direta para a participação do setor florestal com 7% do PIB nacional.

Tendo em vista o crescimento expressivo das áreas plantadas com eucalipto, técnicas que visem aumentar a produtividade e qualidade das mudas são de grande interesse. Neste sentido, a cultura de tecidos vegetais *in vitro* figura como uma alternativa promissora, pois através desta pode-se obter uma progênie com qualidade fitossanitária em larga escala.

Dentre as várias técnicas de propagação *in vitro*, a micropropagação tem sido aquela de maior interesse científico e econômico, atualmente. Na área florestal é a técnica mais difundida e possui aplicações práticas comprovadas. Em vista da potencialidade da aplicação das técnicas de propagação *in vitro* em espécies florestais, inúmeros trabalhos têm sido desenvolvidos no intuito de tornar esta tecnologia acessível e economicamente viável.

No entanto, algumas desvantagens e dificuldades são encontradas durante o processo como: a necessidade de desenvolvimento de protocolos diferenciados para diferentes espécies ou grupos de clones, a recalcitrância das culturas à propagação *in vitro* de espécies lenhosas e os riscos da contaminação acidental das culturas por microrganismos (Xavier et al. 2007). Além desses fatores, devido ao fato de as espécies florestais serem relativamente pouco domesticadas, avanços biotecnológicos relativos à propagação *in vitro* têm sido pouco expressivos, se comparados com outras culturas de expressão agrícola; entretanto, é reconhecido o grande potencial de impacto da utilização desta biotecnologia na silvicultura clonal e na indústria de base florestal (Penchel et al. 2007, Xavier et al. 2009).

Diante do exposto, o trabalho teve como objetivo determinar um protocolo de multiplicação *in vitro* para *Eucalyptus urograndis*.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do experimento

O experimento foi conduzido nos Laboratório Central de Biologia Molecular da Universidade Federal de Lavras.

Material Vegetal e condição de cultivo

Para a obtenção de brotações segmentos caulinares medindo aproximadamente 2 cm foram inoculados em frascos contendo 50 mL de meios de cultura EMBRAPA acrescido de diferentes combinações dos reguladores de crescimento Ácido indolacético (0, 1, 2mgL⁻¹) e 6-benzilaminopurina (0; 0,04; 0,08; 0,16mgL⁻¹). O experimento foi conduzido em sala de crescimento, a 27±2°C, e fotoperíodo de 16 horas.

O delineamento do experimento foi inteiramente casualizado constando de 12 tratamentos, 5 repetições e 5 parcelas.

Análise dos dados

A análise foi realizada aos 30 dias após inoculação sendo que nesta foram consideradas o número de brotações formadas por explante, e o tamanho da maior brotação.

Os dados obtidos foram analisados no programa SISVAR. Foi realizada ANAVA seguida de comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a variável número de brotações por explante, os melhores tratamentos foram ao que continham as combinações de reguladores: 2mgL^{-1} de AIA com $0,04\text{mgL}^{-1}$ BAP (T10) e 2mgL^{-1} de AIA com $0,16\text{mgL}^{-1}$ BAP (T12). Como pode se observar no gráfico abaixo (FIGURA 1).

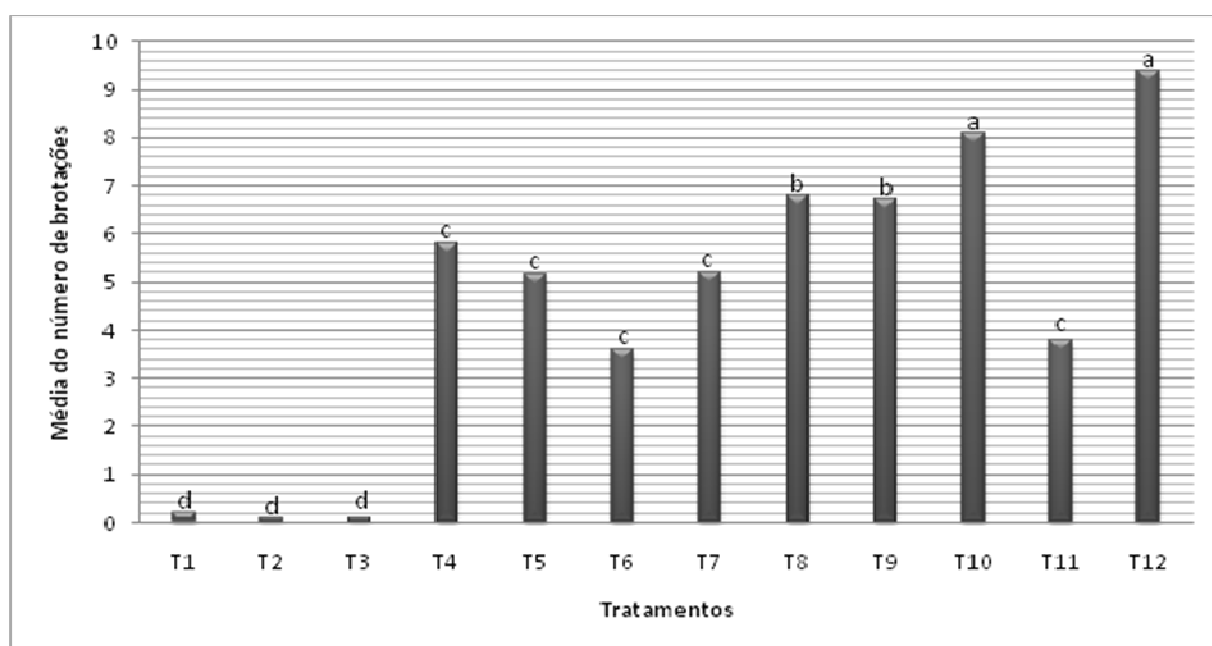


Figura1: Gráfico de barras indicando a média do número de brotações formadas por tratamento. (T1) Ausência de reguladores, (T2) $0,04\text{mgL}^{-1}$ BAP, (T3) $0,08\text{mgL}^{-1}$ BAP, (T4) $0,16\text{mgL}^{-1}$ BAP, (T5) 1mgL^{-1} AIA, (T6) 1mgL^{-1} AIA + $0,04\text{mgL}^{-1}$ BAP, (T7) 1mgL^{-1} AIA + $0,08\text{mgL}^{-1}$ BAP, (T8) 1mgL^{-1} AIA + $0,16\text{mgL}^{-1}$ BAP, (T9) 2mgL^{-1} AIA, (T10) 2mgL^{-1} AIA + $0,04\text{mgL}^{-1}$ BAP, (T11) 1mgL^{-1} AIA + $0,08\text{mgL}^{-1}$ BAP, (T12) 2mgL^{-1} AIA + $0,16\text{mgL}^{-1}$ BAP (FIGURA 1).

Os tratamentos que apresentaram melhores resultados para variável comprimento da maior brotação, foram aqueles que apresentaram as seguintes combinações de reguladores: $0,16\text{mgL}^{-1}$ BAP; 1mgL^{-1} AIA; 1mgL^{-1} AIA + $0,04\text{mgL}^{-1}$ BAP; 1mgL^{-1} AIA + $0,16\text{mgL}^{-1}$ BAP; 1mgL^{-1} AIA + $0,08\text{mgL}^{-1}$ BAP. Pode-se observar as médias dos números tamanhos da maior brotação pelo gráfico abaixo (FIGURA 2).

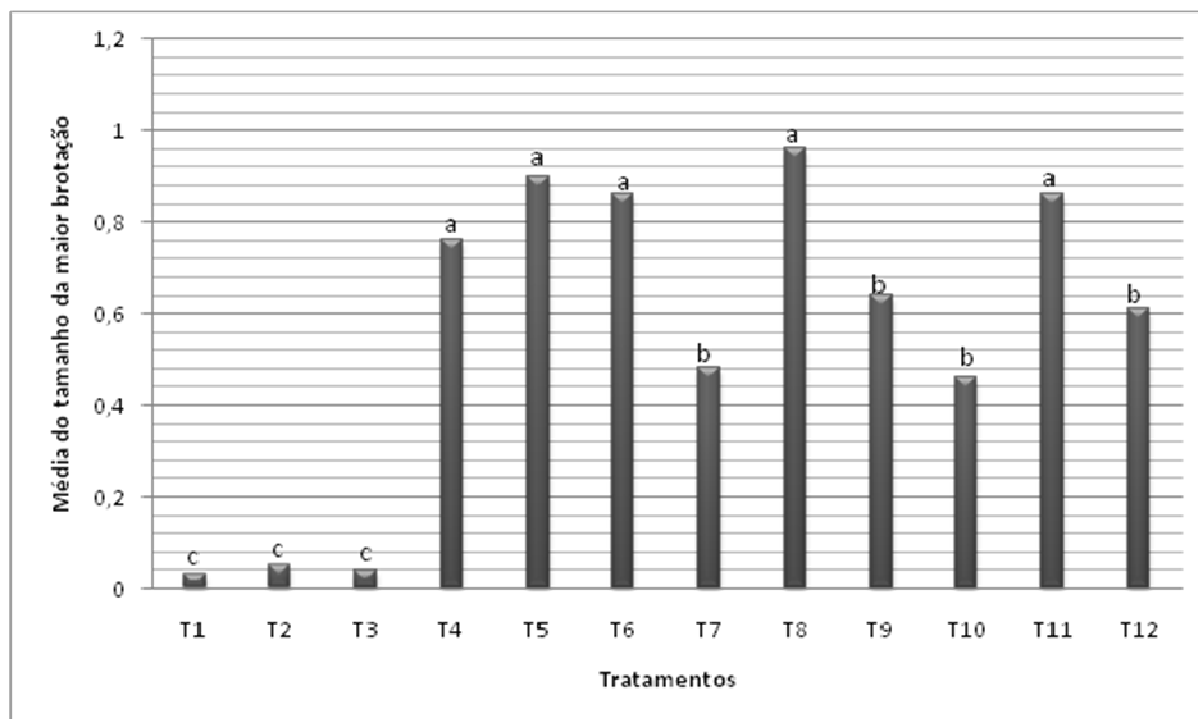


Figura 2: Gráfico de barras indicando as médias dos tamanhos da maior brotação por tratamento. (T1) Ausência de reguladores, (T2) $0,04\text{mgL}^{-1}$ BAP, (T3) $0,08\text{mgL}^{-1}$ BAP, (T4) $0,16\text{mgL}^{-1}$ BAP, (T5) 1mgL^{-1} AIA, (T6) 1mgL^{-1} AIA + $0,04\text{mgL}^{-1}$ BAP, (T7) 1mgL^{-1} AIA + $0,08\text{mgL}^{-1}$ BAP, (T8) 1mgL^{-1} AIA + $0,16\text{mgL}^{-1}$ BAP, (T9) 2mgL^{-1} AIA, (T10) 2mgL^{-1} AIA + $0,04\text{mgL}^{-1}$ BAP, (T11) 1mgL^{-1} AIA + $0,08\text{mgL}^{-1}$ BAP, (T12) 2mgL^{-1} AIA + $0,16\text{mgL}^{-1}$ BAP (FIGURA 1).

Considerando-se os resultados obtidos e as análises realizadas, pode-se dizer que o tratamento que apresentou melhores médias para as duas características avaliadas foi o T12 que foi composto pelo meio EMBRAPA acrescido de 2mgL^{-1} AIA + $0,16\text{mgL}^{-1}$ BAP. Este apresentou maior média de número de brotações por explante e uma segunda maior média para a característica tamanho da maior brotação.

As citocininas e auxinas são os reguladores de crescimento mais utilizados na cultura de tecidos (CALDAS ET al., 1990). O tipo e a concentração influenciam na multiplicação in vitro, onde normalmente a melhor faixa fica entre $0,5$ e $5,0\text{mg.L}^{-1}$ para ambos fitorreguladores. Segundo LITZ & JARRET (1991), frequentemente se induz a formação de calos em explantes cultivados em meio contendo auxina, ou com uma alta relação citocinina/auxina. Observamos estes resultados nos tratamentos T3 e T4.

Os trabalhos com macieira mostram que o 6- benzilaminopurina (BAP) é essencial para a indução de brotações (ARELLO et al., 1989). Em concentrações acima de $3,1\text{mM}$, pode aumentar a formação de calos e o rosetamento das brotações (LASZLOFFY et al., 1992). Para DING et al. (1996), a suplementação do meio com BAP em concentrações até $22,2\text{mM}$ é um fator importante para a regeneração de brotos adventícios em explantes de macieira.

Em estudo com explantes nodais de guaco, Diniz et. al.(2006), observou que aos 60 dias, 100% dos explantes haviam emitido novas gemas e o maior número médio de gemas emitidas por explante foi verificado nos tratamentos com $1,0$ a $4,0\text{mg.L}^{-1}$ de BAP. Tal resultado concorda com os obtidos neste trabalho que apresentou maiores médias de brotações por explante quando se utilizou a maior concentração de BAP.

CONCLUSÃO

A melhor concentração de reguladores dos reguladores de crescimento para a indução de brotações em segmentos nodais de *E. urograndis* clone é : 2mgL⁻¹ AIA + 0,16mgL⁻¹ BAP acrescidos ao meio EMBRAPA.

REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS. **Anuário estatístico:** ano base 2009. Brasília, 2010. 129 p. Disponível em: (<http://www.abraflor.org.br/estatísticas>) Acesso em: 13/08/2010.

ASSOCIAÇÃO MINEIRA DE SILVICULTURA. **Estatísticas.** Disponível em: (<http://www.silviminas.com.br>). Acesso em: 13/08/2010.

ARELLO, E.F.; PASQUAL, M.; PINTO, J.E.B.P. Influência do ANA e BAP sobre a multiplicação de brotos de macieira (*Malus domestica* Borkh.) cv Melrose *in vitro*. **Ciência Prática**, Lavras, v.13, n.3, p.306-313, 1989.

CALDAS, L.S.; HARADASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C. & CALDAS, L.S. ed. **Técnicas e Aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTB/EMBRAPA - CNPH, 433p, 1990.

DINIZ, J. D. N.; MAGALHÃES, R. J., INNECO, R.; ALMEIDA, J. L.; PINHO, J. L. N.; Multiplicação e enraizamento *in vitro* de guaco. *Revista Ciência Agronômica*, v.37, n.1, p. 59-64, 2006)

DING, A.P.; WANG, H.F. Factors affecting the differentiation of adventitious buds on apple leaves cultured *in vitro*. **China Fruits**, n.4, p.20-21, 1996.

DOSSA, D.; SILVA, H. D.; BELLOTE, A. F. J.; RODIGHERI, H. R.; **Produção e rentabilidade do eucalipto em empresas florestais**. Colombo: Embrapa, 2002. 4p.

LASZLOFFY, K.; KADER, A.M.A.; MATHE, A. *In vitro* propagation of 'Julyred' apple. **Acta Horticulturae**, n.300, p.149-154, 1992.

LITZ, R.E.; JARRET, R.L. Regeneracion de plantas en el cultivo de tejidos, embriogênese somática y organogênese. In: ROCA, W.M.; MROGINSKY, L.A. **Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos e aplicaciones.**, Cali: CIAT, 1991, p.143-172.

SHARMA, J. Development of Biotechnological Tools for the Genetic Improvement of selected elite clones of *Eucalyptus tereticornis* Sm. **Dissertatinon** (2006) Thapar Institute of Engineering and Technology.

SILVEIRA, R. L. V. A., Evaluation of the nutritional status of *Eucalyptus*: visual and foliar diagnosis and their interpretation. In: Gonçalves, J. L. M.; BENEDETTI, V. (Ed.). **Forest nutrition and fertilization**. Piracicaba: IPEF, 2004. P. 85-111.

XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA
27 de setembro a 01 de outubro de 2010

PENCHEL R.M., OTONI W.C., XAVIER A. 2007. Tecnologia de biorreatores e propagação in vitro, pp. 75-92. In: BORÉM (ed). **Biotecnologia Florestal**, Viçosa:UFV.

XAVIER A., OTONI W.C., PENCHEL R.M. 2007. Micropropagação e enxertia in vitro de espécies florestais, pp. 55-74. In: A. BORÉM (ed). **Biotecnologia Florestal**. Viçosa: [s.n.].

XAVIER A., WENDLING L., SILVA R.L. 2009. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. Viçosa, MG: Ed. UFV 272 p.