

**EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE AIB NO ENRAIZAMENTO *IN VITRO* DE
EUCALYPTUS UROGRANDIS**

TÂNIA REGINA BATISTA¹, VANESSA STEIN²; EVÂNIA GALVÃO MENDONÇA³, LUCIANO VILELA PAIVA⁴, BRENO RÉGIS SANTOS⁵

RESUMO

O mercado de florestas plantadas com espécies do gênero *Eucalyptus* está em franca expansão, esta é resultado de um conjunto de fatores que vêm favorecendo o plantio em larga escala. Entre os aspectos mais relevantes 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 tem 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 enraizamento de *Eucalyptus urograndis* clone LCBM224. O experimento foi realizado no Laboratório Central de Biologia Molecular onde plântulas medindo aproximadamente 2 cm foram, em câmara de fluxo laminar, inoculadas em frascos contendo 50 mL de meios de cultura EMBRAPA acrescido de diferentes combinações dos reguladores de crescimento AIB (0; 0,1; 0,5; 1,0; 1,5mgL⁻¹) e sacarose (ausência, 10g). O experimento foi armazenado 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: presença de raízes por explante e comprimento da parte aérea. Analisando-se os resultados obtidos, conclui-se que o tratamento meio EMBRAPA combinado apenas com 10g.L⁻¹ de sacarose foi o que apresentou melhor resultado.

Palavras-chaves: Enraizamento, AIB, Eucalipto.

INTRODUÇÃO

A área plantada com espécies do gênero *Eucalyptus*, está em franca expansão na maioria dos estados brasileiros com tradição na silvicultura deste grupo de espécies e nas novas fronteiras da silvicultura. Tal expansão é resultado de um conjunto de fatores que vêm favorecendo o plantio em larga escala deste gênero. Entre os aspectos mais relevantes 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.

Pertencente à família Myrtaceae, o gênero *Eucalyptus*, 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

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

² Professora Adjunta, DBI/UFG, vanessa.stein@hotmail.com

³ Doutoranda em Fisiologia Vegetal, DBI/UFLA, evaniafloresta@hotmail.com

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

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

rendimentos próximos a $60 \text{ m}^3\text{ha}^{-1}$ por ano, dados expressivos se comparados às 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 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 foi produzido 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 m^3 desse insumo (AMS, 2010). O Estado de Minas Gerais figura como maior produtor e consumidor, pois possui o maior parque siderúrgico movido 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, esta 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 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 enraizamento para *E. urograndis* clone LCBM224.

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 concentrações do regulador de crescimento AIB (0; 0,1; 0,5; 1,0; $1,5\text{mgL}^{-1}$) e na presença e ausência de 10g de sacarose. O experimento foi mantido em sala de crescimento, a $27\pm 2^\circ\text{C}$, e fotoperíodo de 16 horas.

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

Análise dos dados

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

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

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a presença de raízes por explante, foram observadas diferenças estatisticamente significativas. Foi possível observar efeito positivo da adição de sacarose no meio de cultura, pois os melhores tratamentos foram os que continham 10 mg.L^{-1} de sacarose (T6, T7, T8, T9), quando comparados aos tratamentos sem sacarose (T1, T2, T3, T4, T5). Observando-se o efeito do regulador de crescimento AIB na indução da produção de raízes, verificou-se que o aumento da concentração deste regulador, combinado com a presença de sacarose tem um efeito positivo no enraizamento, no entanto a concentração mais alta de AIB (T10 e T5) leva a diminuição do enraizamento (Figura 1).

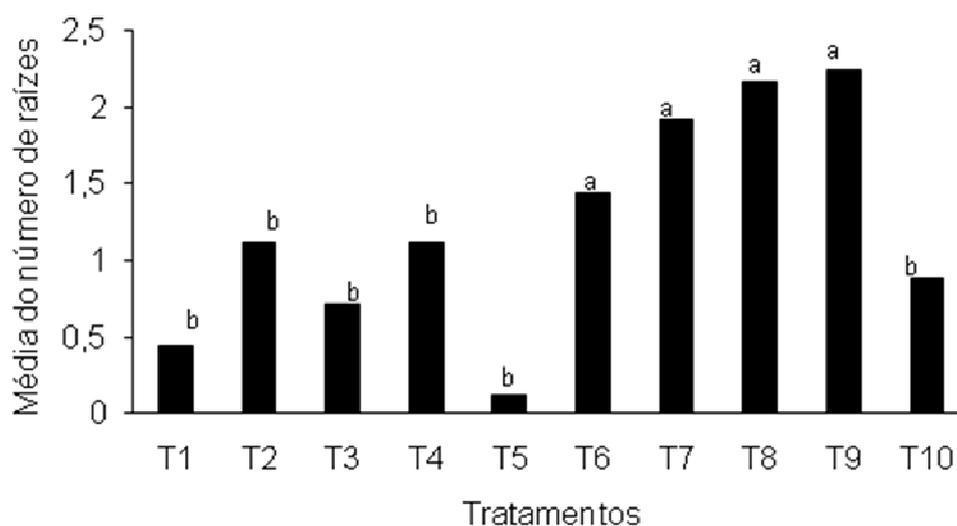


Figura1: Média do número de raízes por explante. (T1) Ausência de reguladores e sacarose (T2) $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ AIB, sem sacarose, (T3) $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ AIB, sem sacarose (T4) $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ AIB, sem sacarose (T5) $1,5 \text{ mg.L}^{-1}$ AIB, sem sacarose (T6) Ausência de reguladores e 10 mg.L^{-1} de sacarose, (T7) $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ AIB + 10 mg.L^{-1} de sacarose, (T8) $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ AIB + 10 mg.L^{-1} de sacarose, (T9) 1 mg.L^{-1} AIB + 10 mg.L^{-1} de sacarose (T10) $1,5 \text{ mg.L}^{-1}$ AIB + 10 mg.L^{-1} de sacarose. As letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os tratamentos que apresentaram melhores resultados para variável comprimento da parte aérea e comprimento da raiz, foram aqueles que continham 10 mg.L^{-1} de sacarose (T6) e $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ AIB + 10 mg.L^{-1} de sacarose (T7), evidenciando o efeito positivo da sacarose no desenvolvimento de da parte aérea e da raiz de plantas *in vitro*. (Figuras 2 e 3).

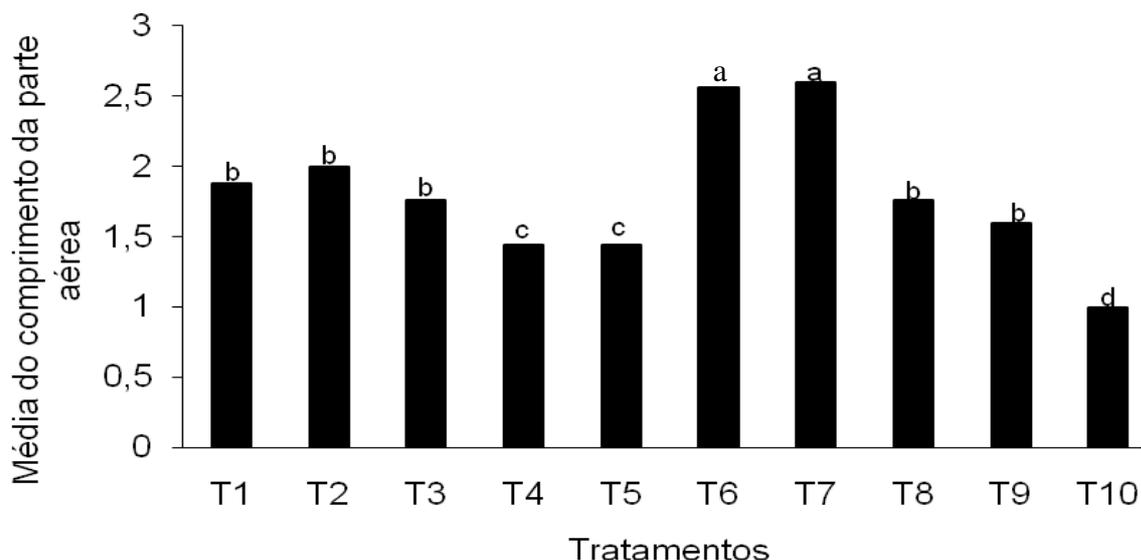


Figura2: Médias do comprimento da parte aérea. (T1) Ausência de reguladores e sacarose (T2) $0,1\text{mgL}^{-1}$ AIB, sem sacarose, (T3) $0,5\text{mgL}^{-1}$ AIB, sem sacarose (T4) $0,1\text{mgL}^{-1}$ AIB, sem sacarose (T5) $1,5\text{mgL}^{-1}$ AIB, sem sacarose (T6) Ausência de reguladores e 10mg.L^{-1} de sacarose, (T7) $0,1\text{mgL}^{-1}$ AIB + 10mg.L^{-1} de sacarose, (T8) $0,5\text{mgL}^{-1}$ AIB + 10mg.L^{-1} de sacarose, (T9) 1mgL^{-1} AIB + 10mg.L^{-1} de sacarose (T10) $1,5\text{mgL}^{-1}$ AIB + 10mg.L^{-1} de sacarose. As letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

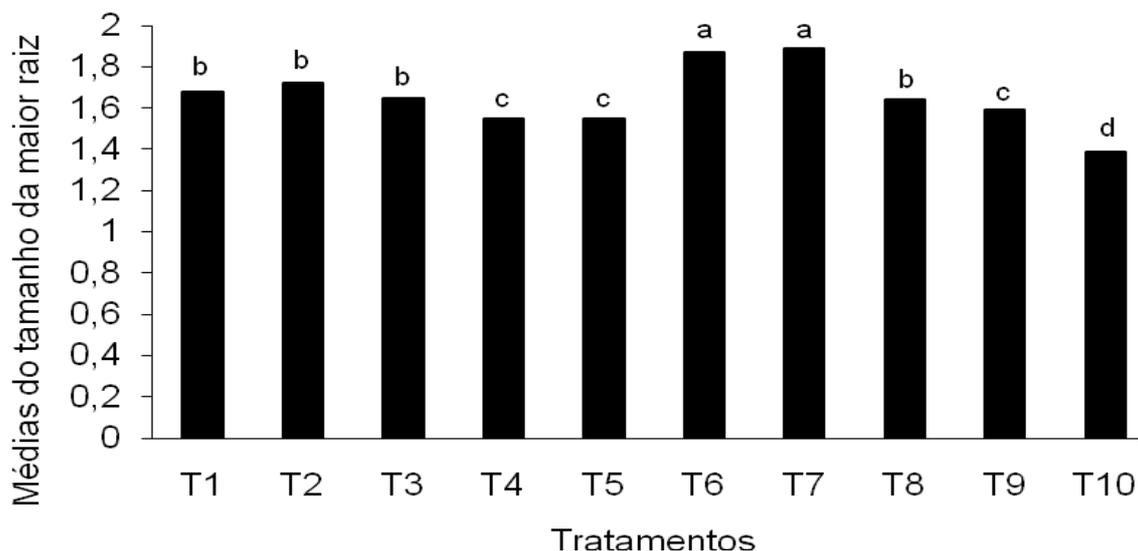


Figura 3: Médias dos tamanhos da maior raiz por tratamento. . (T1) Ausência de reguladores e sacarose (T2) $0,1\text{mgL}^{-1}$ AIB, sem sacarose, (T3) $0,5\text{mgL}^{-1}$ AIB, sem sacarose (T4) $0,1\text{mgL}^{-1}$ AIB, sem sacarose (T5) $1,5\text{mgL}^{-1}$ AIB, sem sacarose (T6) Ausência de reguladores e 10mg.L^{-1} de sacarose, (T7) $0,1\text{mgL}^{-1}$ AIB + 10mg.L^{-1} de sacarose, (T8) $0,5\text{mgL}^{-1}$ AIB + 10mg.L^{-1} de sacarose, (T9) 1mgL^{-1} AIB + 10mg.L^{-1} de sacarose (T10) $1,5\text{mgL}^{-1}$ AIB + 10mg.L^{-1} de sacarose

A presença de carboidrato é essencial para o enraizamento de muitas espécies “in vitro” (GRATTAPAGALIA & MACHADO, 1990; GEORGE & SHERRINGTON, 1984; SRIKANDARAJAH & MULLINS, 1981), sendo a sacarose o açúcar mais utilizado na micropropagação. Wainwright e Scrace (1989) sugerem manter a sacarose no nível normalmente utilizado (3%), ou até mesmo aumentá-lo numa fase anterior à aclimatização, visando a melhorar a qualidade da planta. Segundo eles, esse pré-condicionamento em altas concentrações de sacarose aumentaria as reservas de carboidratos armazenadas pelas folhas, aumentando, assim, a energia disponível para as plântulas durante o processo de aclimatização.

O tratamento que apresentou melhores médias para as características avaliadas foi o T6, sem regulador de crescimento e com 10mg.L⁻¹ de sacarose, não diferindo do T7 que continha 0,1mg.L⁻¹. Nesses tratamentos podemos verificar maior taxa de enraizamento e melhor desenvolvimento fisiológico das plantas. Neste contexto o meio de cultura menos indicado para o enraizamento de plantas de eucalipto são os que contem a concentração mais alta testada de AIB (1,5 mg.L⁻¹) por apresentar efeito inibitório no enraizamento.

CONCLUSÃO

O melhor meio para o enraizamento de *Eucalyptus urograndis* clone LCBM224, é o meio EMBRAPA com 10g.L⁻¹ de sacarose nas condições testadas no presente experimento.

REFERENCIAL 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.

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

GEORGE, E.F.; SHERRINGTON, P.D. **Plant propagation by tissue culture**. Eversley: Exegetics, 1984.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. IN: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília. ABCTP/EMBRAPA- CNPH, 1990. 433p., p. 99-169.

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

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: Gonçálvez, J. L. M.; BENEDETTI, V. (Ed.). **Forest nutrition and fertilization**. Piracicaba: IPEF, 2004. P. 85-111.

SRISKANDARAJAH, S.; MULLINS, M.G. Micropagation of Granny Smith apple: factors affecting root formation “in vitro”. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.56, n,1, p.71-71, 1981.

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

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

WAINWRIGHT, H.; SCRACE, J. Influence of “in vitro” preconditioning with Carbohydrates during the rooting of microcuttings on “in vitro” establishment. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.38, p.261-267, 1989.