

Capítulo 9

Propagação Vegetativa de Espécies Florestais

*Maria Elisa Cortezzi Graça¹
Fernando Rodrigues Tavares²*

Introdução

A propagação vegetativa ou assexuada é uma técnica utilizada para reproduzir uma planta geneticamente idêntica à planta-mãe. Isso só é possível porque as células contêm, em seus núcleos, a informação necessária para gerar uma nova planta, em um princípio denominado de totipotência. Como essas células reproduzidas são somáticas, não havendo a união de gametas, as plantas resultantes são denominadas clones e o processo chama-se clonagem.

Para espécies florestais, a propagação vegetativa oferece várias vantagens. Entre elas, a possibilidade de ganhos genéticos maiores do que na reprodução via semente em um menor período de tempo (Karnosky, 1981; Wilkins et al., 1985; Wyk, 1985). Ao contrário de espécies agrícolas, as florestais apresentam geralmente uma prolongada fase juvenil antes de atingir

¹ Eng. Agrôn., Ph.D., Pesquisadora da Embrapa Florestas.

² Eng. Agrôn., B.Sc., Pesquisador da Embrapa Florestas.

o florescimento e a maturidade. Isso constitui um empecilho para os melhoristas, uma vez que a árvore deve atingir a maturidade para que indivíduos superiores possam ser identificados com confiança. Após a seleção das árvores superiores, muitas vezes, elas são cruzadas com outras que podem estar a quilômetros de distância, tornando esses cruzamentos extremamente difíceis. As árvores selecionadas podem ser utilizadas também para estabelecer pomares de sementes; entretanto, isso irá demandar um tempo considerável até se obter sementes em quantidades suficientes para o reflorestamento.

Outro aspecto da propagação de espécies florestais via sementes é o fato de algumas espécies economicamente importantes como, por exemplo, *Tectona grandis*, terem baixa produção de sementes e em intervalos irregulares (Wilkins et al., 1985). Adicionalmente, a germinação de muitas dessas espécies é baixa e a viabilidade, que muitas vezes pode ser baixa, reduz-se rapidamente após algumas semanas ou meses.

Com a propagação vegetativa, esses problemas podem ser superados. A propagação vegetativa abrevia o tempo necessário após o plantio, em pomares clonais feitos por enxertia, pois o período de juvenilidade é reduzido. Nos pomares clonais, as árvores são mais baixas do que nos plantios da mesma idade feitos a partir de sementes, facilitando a coleta de sementes. Por serem geneticamente idênticas, o crescimento é homogêneo, reduzindo assim os custos de manejo. Para muitas espécies, esse é o único método de perpetuar plantas livres de doenças e patógenos (Hartmann et al., 1990).

Apesar dessas vantagens, existem algumas limitações na propagação vegetativa, tais como a perda de vigor, em relação às plantas propagadas por sementes; a restrição da variabilidade genética; o maior custo e a baixa produção nos casos de alguns métodos.

O presente capítulo trata de uma abordagem geral sobre as diferentes técnicas de propagação vegetativa e dos principais fatores que influenciam esses processos, visando tornar o emprego dessas técnicas acessível ao leitor interessado no assunto.

Métodos de propagação vegetativa

A maioria das informações sobre os métodos de propagação vegetativa foi relatada por Hartmann et al. (1990) e compilada neste texto. Os métodos de propagação vegetativa tradicionalmente utilizados, como a estaquia, a enxertia, a alporquia, ou simplesmente divisão, têm-se expandido a outros métodos de propagação *in vitro*, como a micropropagação. A essa técnica, estão associados métodos de melhoramento genético que incluem o isolamento e a transferência de fragmentos de DNA de uma célula vegetativa para outra (engenharia genética) ou a combinação de duas células somáticas na geração de um novo indivíduo, excluindo, assim, o processo sexual de reprodução. Esses processos de propagação e de melhoramento estão incluídos na biotecnologia.

Estaquia

Os tipos de estacas comumente empregados são estacas de ramos, de ramos modificados, de folhas e de raízes. Para estacas de ramos, é necessário somente a formação de um sistema radicular adventício, enquanto para estacas de folhas e de raízes, é necessário formar ambas as partes: aérea e raízes.

As estacas são classificadas de acordo com a parte da planta da qual é retirada, podendo ser de ramos lenhosos, semilenhosos e herbáceos, estacas de folhas (por exemplo, da violeta africana, begônias), estacas de raízes, contendo uma

gema e um ramo (por exemplo, camélia, *Acer* spp.) e estacas de raízes, cujos exemplos incluem várias espécies de *Populus*, *Ulmus carpinifolia*, *Sassafras albidum*.

A capacidade de regeneração depende de duas características fundamentais. Uma, já mencionada, é a totipotência, e a outra é a capacidade das células diferenciadas retornarem à capacidade meristemática (dediferenciação). Fatores que propiciem essas duas características necessitam ser investigados quando se pretende utilizar essa técnica para uma determinada espécie.

Segundo Hartmann et al. (1990), existem dois tipos de formação de raízes adventícias: raízes pré-formadas e raízes resultantes de uma injúria. As primeiras desenvolvem-se naturalmente nos ramos, enquanto estão juntas à planta doadora, isto é, podem emergir antes de se retirar a estaca da planta-mãe, como acontece no *Ficus*, *Populus* e *Salix*. As últimas se originam em resposta à injúria do corte, somente após ser segmentada da planta doadora. Nesse caso, essas raízes são novamente formadas na seqüência dos seguintes eventos:

- Na superfície do corte, forma-se uma camada necrótica, composta de suberina, que sela os vasos condutores, prevenindo a dessecação e a entrada de patógenos.
- As células vivas sob essa camada começam a se dividir e, uma outra camada, dessa vez de células do parênquima, começa a se dividir, iniciando uma formação de calos, e posteriormente, a periderme.
- Células vizinhas ao câmbio e ao floema começam a se dividir, dando início às raízes adventícias.

Em plantas lenhosas perenes, nas quais uma ou mais camadas de xilema e floema secundários estão presentes, as raízes adventícias normalmente se originam de células vivas do parênquima, principalmente do floema secundário. Após a

emergência do ramo, as raízes possuem uma completa conexão vascular com o ramo que lhes deu origem.

As raízes são sempre formadas na parte basal da estaca, próximo à junção entre a parte aérea e o futuro sistema radicular, enquanto a parte aérea é formada próximo à parte mais distal (ápice) da estaca, em um fenômeno conhecido como polaridade.

O tempo necessário para ocorrer a iniciação radicular varia de espécie para espécie, mas uma vez formado o primórdio radicular, não há diferença entre plantas de fácil e plantas de difícil enraizamento.

Fatores que afetam a iniciação de raízes e da parte aérea

Seleção da planta doadora ou planta-mãe

As condições fisiológicas e ambientais da planta doadora irão influenciar no enraizamento das estacas. Entre esses fatores, podem ser citados:

- **Estresse hídrico:** estacas retiradas de plantas sob deficiência hídrica normalmente exibem um menor enraizamento do que estacas retiradas de plantas túrgidas. Daí a recomendação para que as estacas sejam coletadas bem cedo, quando os ramos ainda estão túrgidos. Esse fator é extremamente importante para estacas herbáceas ou semi-herbáceas, como é o caso de eucalipto, para o qual recomenda-se, adicionalmente, que os ramos sejam mantidos em água até o momento da produção das estacas, para a preservação da turgidez.
- **Temperatura:** apesar da temperatura interagir com vários outros fatores e afetar, principalmente, certos

reguladores de crescimento, a temperatura do ar a que está submetida a planta doadora tem um efeito pequeno no enraizamento de estacas.

- Intensidade luminosa, fotoperíodo e qualidade de luz: a luz é um fator que contribui para o enraizamento das estacas, principalmente em climas temperados, onde há variação sazonal, marcada pela diferença no fotoperíodo. É importante mencionar que o fotoperíodo está ligado ao florescimento, o qual é antagonista do enraizamento. O efeito da luz sobre a planta doadora, no entanto, é conflitante no aspecto do enraizamento de estacas, podendo ser inibitório, estimulador ou não afetar o enraizamento. Para algumas espécies, a qualidade (comprimento de onda) afeta o número de raízes formadas. Essa resposta pode ser mediada pela fotomorfogênese (via fitocromo) (Wareing & Phillips, 1977). Por sua vez, a exclusão total da luz (estiolamento) ou sombreamento parcial estimula o enraizamento de muitas espécies. Uma explicação para isso seria a mudança nos compostos fenólicos, que podem agir como co-fatores de enraizamento ou inibidores da enzima AIA-oxidase, destruindo menos o ácido indol-3-acético (auxina natural), estimulando o enraizamento ou aumentando a sensibilidade da estaca à auxina.

Estacas de *Eucalyptus dunnii*, submetidas às intensidades luminosas de 100%, 70% e 50%, apresentaram-se mais vigorosas quando sombreadas, sem apresentar diferenças no enraizamento (Cooper, 1990).

- Enriquecimento com CO₂ e carboidratos: o enriquecimento de casas de vegetação com CO₂ tem um efeito direto na fotossíntese, resultando em uma maior quantidade de propágulos disponíveis para o enraizamento do que no enraizamento propriamente dito. Quanto aos

carboidratos, embora uma relação alta entre carboidratos (C) e nitrogênio (N) tenda a estimular a formação de um maior número de raízes, não há uma relação direta entre a taxa de carboidratos e a porcentagem de enraizamento. Em outras palavras, não é possível prever o percentual de enraizamento com a relação C/N da estaca. Isso se deve também ao fato do N estar negativamente correlacionado com o enraizamento, corroborando com a observação de que uma taxa alta de C/N favorece o enraizamento devido aos baixos níveis de N.

- **Nutrição mineral:** o nível nutricional da planta doadora influencia no enraizamento das estacas dela retiradas. O excesso de nitrogênio resulta em brotações vigorosas, enquanto que a deficiência causa redução do seu vigor. Ambas as condições são desfavoráveis ao enraizamento. Para manter um equilíbrio entre o nitrogênio e os carboidratos, é necessário reduzir a fertilização com nitrogênio, isto é, reduzir o vigor das plantas. Isso pode também ser obtido com a poda. Outra medida complementar para aumentar o sucesso no enraizamento de estacas é selecionar as partes das plantas que não apresentem um crescimento tão vigoroso. As porções basais tendem a fornecer uma maior relação C/N que as apicais, o que favorece o enraizamento. Entretanto, esses aspectos variam de acordo com a espécie.

Outros nutrientes, em particular, o zinco, o manganês e o boro, têm estimulado o enraizamento de inúmeras espécies. A influência de cada um, no entanto, deve ser determinada para o sistema utilizado.

- **Anelamento:** essa prática bloqueia a translocação de carboidratos, hormônios e outros nutrientes para a base da planta, podendo resultar em um maior enraizamento.

- Rejuvenescimento: quando a árvore atinge a maturidade, torna-se impraticável ou até impossível a propagação por estaquia. No entanto, para algumas espécies, como *Eucalyptus*, a estaquia é viável desde que se use material rejuvenescido, ou seja, tratamentos que revertam à fase juvenil da espécie. Para rejuvenescer o eucalipto, o método recomendado é o corte da árvore aproximadamente a 15 cm do solo, em um ângulo de 45°, para evitar o apodrecimento da touça. Em regiões frias, esse corte é efetuado no final do inverno, para que a rebrota ocorra na primavera, quando as brotações atingem de 45 a 60 cm de altura. As desvantagens desse método são a necessidade do corte da árvore e a perda do genótipo selecionado, caso este não rebrote. Para algumas espécies de *Pinus*, mantém-se as plantas constantemente podadas, em forma de cercas vivas, preservando assim, a característica juvenil. Utiliza-se, também, a enxertia sucessiva, até a obtenção do rejuvenescimento, pois o material adulto apresenta dificuldade de enraizar.
- Variabilidade genética: no enraizamento, estacas retiradas de plantas produzidas por semente apresentam diferenças significativas no enraizamento de estacas. Essa variabilidade genética pode também ser observada entre procedências, dentro de uma mesma procedência e, obviamente, entre clones. Tavares et al. (1990) verificaram enraizamento de 35% a 60%, em três progênies de *Alnus subcordata*.
- Diferenças entre partes do ramo: estacas retiradas de ramos laterais, durante a primavera, resultam em maior enraizamento do que estacas retiradas de ramos terminais. Quando comparadas as partes dentro de um ramo, o enraizamento diminui à medida que se caminha da

base para o ápice do ramo. Em erva-mate, estacas retiradas das secções mediana e basal apresentaram um maior enraizamento do que as retiradas da secção apical (Tavares et al., 1992).

As estacas para o enraizamento podem ser retiradas de ramos vegetativos ou reprodutivos. Para espécies de fácil enraizamento, pode-se usar qualquer tipo de ramo. Para espécies de difícil enraizamento, a natureza do ramo é decisiva. Em geral, o enraizamento é desprezível em estacas retiradas de ramos em florescimento.

No preparo das estacas, pode ser deixado um pequeno pedaço da planta doadora na estaca, para se obter um enraizamento melhor. Isto deve ser a presença de algum cofator ou primórdios radiculares no tecido da planta doadora. A eficácia dessa medida, entretanto, necessita ser determinada para cada espécie.

- Época do ano: a época em que as estacas são retiradas pode exercer um efeito marcante no enraizamento. No caso de espécies decíduas, estacas lenhosas podem ser retiradas no período de dormência. No caso de espécies herbáceas, as estacas podem ser retiradas durante a estação de crescimento. Nas coníferas, as estacas podem ser retiradas durante o ano todo. Em estacas herbáceas de plantas lenhosas, o enraizamento é melhor na primavera do que no inverno.
- Substrato: a função de um substrato para o enraizamento de estacas é: sustentar a estaca durante o período de enraizamento; prover umidade; permitir a penetração de ar e a troca gasosa na base da estaca e criar um ambiente sem luz na base da estaca. Não há substrato ideal; há, no entanto, um mínimo de requerimentos ou propriedades para que se obtenha sucesso

no enraizamento de estacas. Em geral, uma mistura de componentes é melhor para o desenvolvimento da planta do que o uso destes isolado.

Reguladores de crescimento

Entre os reguladores de crescimento, as auxinas são as substâncias que mais afetam o enraizamento de estacas. Apesar do ácido indol-3-acético (AIA) ser uma auxina natural, outras como o ácido indol-3-butírico (AIB) e o ácido naftaleno acético (ANA) são os reguladores mais efetivos na iniciação radicular. Entretanto, altas concentrações de citocininas (zeatina, cinetina, 6-benzil amino purina), em relação às auxinas, favorecem o desenvolvimento das brotações. Geralmente, estacas com alto teor de citocininas endógenas enraízam menos do que as com baixo teor. A influência das citocininas na iniciação radicular depende do estágio dessa iniciação e da concentração desse regulador. Em geral, aplicações de citocininas têm efeito estimulante no desenvolvimento da parte aérea, principalmente as gemas, enquanto aplicações de auxinas inibem o desenvolvimento das mesmas, mas estimulam a formação de raízes.

As giberelinas estimulam o alongamento do ramo, mas inibem a formação de raízes. Ademais, os retardadores de crescimento, que inibem a ação das giberelinas, estimulam o enraizamento. Os efeitos de outros inibidores de crescimento no enraizamento de estacas são variáveis, dependendo da concentração e das condições nutricionais e ambientais da planta doadora. Os efeitos do etileno no enraizamento são mais frequentes para espécies herbáceas do que nas lenhosas. Para as primeiras, o etileno pode promover, inibir ou não ter efeito no enraizamento.

Solução de AIB a 8.000 ppm é utilizada para estimular o enraizamento. Pode ser preparado na formulação líquida, diluída a 50% de álcool etílico; em pó, diluído em talco, ou na forma de sal com potássio. Para se preparar 125 ml de solução alcoólica de AIB, na concentração de 50%, basta diluir 1,0 g de AIB em 62,5 ml de álcool etílico. Uma vez dissolvido o AIB, completa-se o volume até 125 ml com água destilada ou deionizada.

Presença de folhas

A presença de folhas nas estacas estimula significativamente o enraizamento. Esse efeito estimulatório das folhas não é só devido aos carboidratos, que são translocados para a base das estacas, mas principalmente às auxinas e outros cofatores sintetizados nas folhas e gemas, translocados para a base, interagindo sinergisticamente na promoção do enraizamento. A presença de folhas é fundamental para o enraizamento de estacas de eucalipto (Geary & Harding, 1984).

Nos casos de eucalipto e da erva-mate (*Ilex paraguariensis*), recomenda-se deixar um par de folhas com área foliar reduzida a 50%, para um maior acomodamento no leito de enraizamento e também evitar perdas pela transpiração.

Co-fatores e inibidores de enraizamento

Os co-fatores do enraizamento são substâncias que provavelmente atuam endogenamente como sinergistas das auxinas, no estímulo do enraizamento. Sua ação envolve inibição de enzimas, que provocam a oxidação do AIA, como é o caso dos ortofenóis, ou inibição de outros reguladores de crescimento que bloqueiam a síntese ou a ação do AIA. Por outro lado, os inibidores endógenos inviabilizam a propagação vegetativa para árvores adultas, em certas espécies. Em

Eucalyptus grandis, estacas coletadas a partir do décimo quarto internódio não enraízam, por causa do acúmulo de compostos que bloqueiam a formação de raízes adventícias. Esses inibidores, derivados do 2,3-dioxa-biciclo decano, estão ausentes em material juvenil (Paton et al., 1970).

Tratamento das estacas

Os principais tratamentos que podem ser aplicados às estacas são: agentes desinfestantes, reguladores de crescimento, fungicidas, irrigação por meio de um sistema de nebulização intermitente, luz, temperatura e nutrição mineral.

Enxertia

A enxertia consiste em conectar duas partes de tecidos vivos da mesma planta ou de plantas distintas, de maneira a uni-las e fazê-las desenvolver-se para se obter uma nova planta. Esse processo é composto de um cavalo ou porta-enxerto, que é a parte que fica abaixo do enxerto e que contém o sistema radicular, servindo de sustentação para o enxerto. O enxerto, propriamente dito, localiza-se acima e se constitui a parte que realmente se quer propagar.

Para a formação de uma só planta, a partir de duas partes distintas, requer-se um contato íntimo entre elas. É necessário que haja um alinhamento dos respectivos câmbios, de modo que as células de ambas as partes, com capacidade meristemática, entrem em divisão, e aproximem ainda mais essas partes, fazendo a junção das mesmas. Existem condições de temperatura e umidade ideais para promover essa proximidade de células. Temperaturas baixas (abaixo de 10°C) fazem com que o desenvolvimento das massas de células (calo) nas extremidades do porta-enxerto e enxerto seja muito lento, enquanto temperaturas acima de 35°C provocam o

ressecamento e a morte dessas células, resultando na disjunção das partes.

Após a divisão dessas células, há uma resposta pelas extremidades do enxerto e do porta-enxerto, formando o calo entre as partes. Em seguida, certas células desse calo formado se alinham com as células intactas dos respectivos câmbios e formam novas células do câmbio. Essas células, por sua vez, produzem um novo tecido vascular, resultando no xilema, na parte interna, e no floema, na parte externa, estabelecendo uma conexão vascular secundária, que é um requisito para o sucesso da união.

Para se ter êxito na enxertia, devem ser cumpridas as seguintes condições:

- O porta-enxerto e o enxerto precisam ser compatíveis, isto é, serem capazes de se unir. Quanto mais próximas forem as espécies relacionadas, maior facilidade de pegamento.
- A região do câmbio do enxerto precisa estar em contato com a do porta-enxerto.
- A enxertia deve ser realizada com enxertos e porta-enxertos de mesma idade fisiológica.
- Após efetuada a enxertia, as extremidades cortadas devem ser protegidas contra a dissecação. Deve-se proceder também ao controle do crescimento do porta-enxerto.

As vantagens da enxertia incluem:

- Possibilidade de perpetuar clones que não podem ser propagados por outros métodos de propagação vegetativa.
- Obtenção de benefícios de certos porta-enxertos, como resistência às doenças, pragas e insetos.

- Mudança de cultivar de plantas. Se uma cultivar não for mais desejada, é possível enxertá-la com outra, utilizando a planta não mais desejada como porta-enxerto.
- Aceleração da maturidade. Esse processo é muito utilizado no estabelecimento de bancos clonais e de pomares de sementes, onde a enxertia promove uma produção de semente mais precoce do que quando em pé franco.

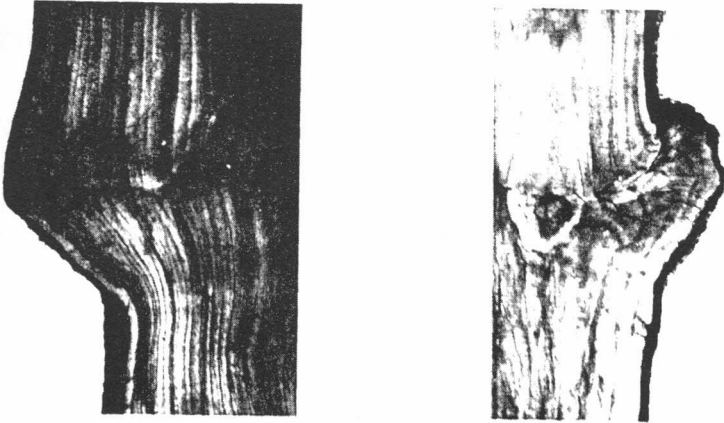
Entre os fatores que influenciam no pegamento dos enxertos estão: a incompatibilidade de tecidos; o tipo de planta; a temperatura; a umidade; o crescimento do porta-enxerto em relação ao enxerto; a técnica de enxertia (Silveira, 1966) e a contaminação da planta por vírus, insetos ou doenças.

A incompatibilidade entre o enxerto e o porta-enxerto é o maior problema da propagação vegetativa de eucalipto, podendo ocorrer imediatamente após a enxertia ou vários anos depois. A incompatibilidade pode ser também localizada, em razão da falha mecânica na união ou translocada, o que não ocorre na união do enxerto e porta-enxerto, mas há uma degeneração do floema, que pode ser visualizada como uma faixa escura ou mancha na casca (Davidson, 1977) (Figura 1).

Tipos de enxerto

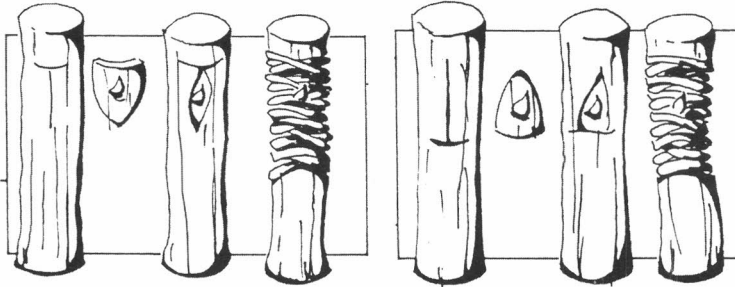
Os três principais processos de enxertia são:

Borbulhia — É o processo pelo qual a gema ou borbulha, acompanhada de uma porção do tecido de uma planta, é inserida e soldada no porta-enxerto de outra planta. A borbulhia pode ser feita nas seguintes modalidades, sob a casca: T direito, T invertido, em placa e crucial; “em placa”: quando é realizada de forma embutida. (Figura 2).



Incompatibilidade

Fig. 1. Incompatibilidade na junção do enxerto e do porta-enxerto.
 Fonte: Davidson (1977).



Borbulhia

Fig. 2. Etapas na enxertia por borbulhia.
 Fonte: Hartmann et al. (1990).

Encostia — É o processo pelo qual o ramo de uma planta, cortado em fenda, é unido lateralmente ao de outra planta, também cortado em fenda, mas no sentido oposto. Nesse processo, há um grande contato entre os câmbios das duas plantas, proporcionando uma grande interface. A cicatrização

nesse tipo de enxerto é mais rápida que nos demais. A encostia pode ser realizada no topo ou na lateral, ambos podendo ser à inglesa ou embutida (Figura 3).

Garfagem — É o processo pelo qual uma estaca de uma planta é inserida em outra por meio de uma fenda, em forma de cunha. A garfagem é um dos métodos de enxertia mais antigos, mais utilizado e com maior número de modalidades. Podem ser: lateral ou no topo, sob a casca ou no albúrbio, em fenda (meia fenda ou completa), à inglesa (simples ou composta), embutido (ordinário ou na coroa) (Figura 4).

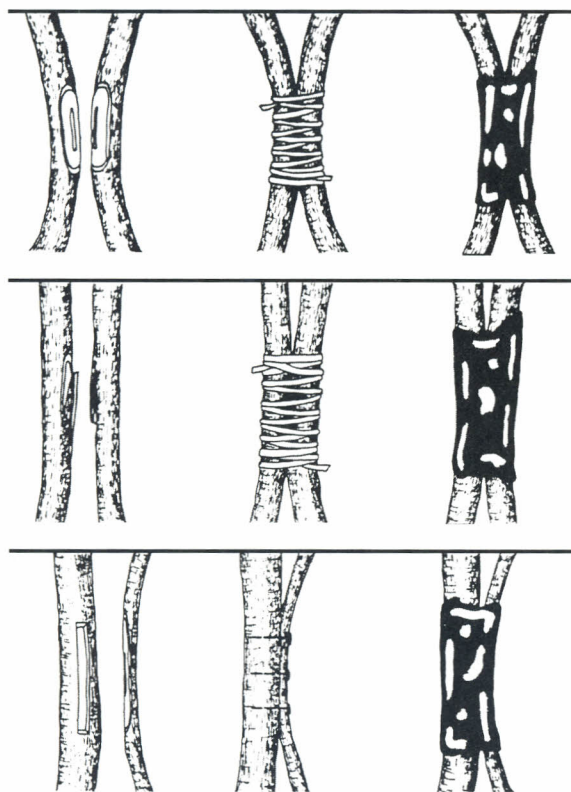


Fig. 3. Enxertia por encostia.
Fonte: Hartmann et al. (1990).

Garfagem

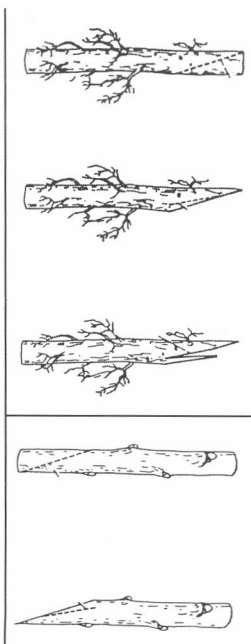
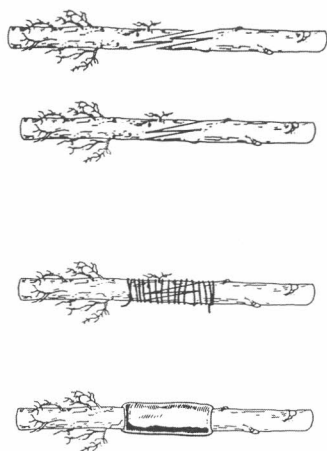


Fig. 4. Etapas na enxertia por garfagem.
Fonte: Hartmann et al. (1990).

Alporquia

É o método de propagação vegetativa pelo qual as raízes são formadas em um ramo, ligado à planta doadora. Esse ramo enraizado pode ser segmentado da planta-mãe e se constituir em uma nova planta. Entre os fatores de maior influência no sucesso desse método estão o estágio nutricional da planta doadora, a condição de estresse como abscisão foliar durante o processo, o grau de rejuvenescimento, a condição de luz no local da incisão, etc.

A alporquia tem várias utilidades como na propagação de plantas difíceis de serem enraizadas por estaquia, apesar do alto custo e do baixo rendimento dessa técnica; na multiplicação de plantas já desenvolvidas, em curto período de tempo,

como, por exemplo, algumas plantas ornamentais, onde um determinado padrão de desenvolvimento é requerido; para a propagação de um número reduzido de plantas de um tamanho desejável, sem requerer a infra-estrutura necessária para a estaquia. Existem vários tipos de alporques que podem ser realizados, dependendo da finalidade e da espécie trabalhada.

Técnicas de cultivo *in vitro*

O termo cultura de tecidos é usado erroneamente para designar todos os diferentes métodos de cultivo *in vitro*, no qual células, tecidos ou órgãos são cultivados em um meio de cultura asséptico, com a finalidade de obtenção de uma plântula. Entretanto, cada método tem suas peculiaridades e finalidades.

Micropropagação — É a técnica de cultivo *in vitro* de maior aplicação na biotecnologia. Esse processo consiste no cultivo asséptico de pequenos segmentos da planta, que são estimulados a se multiplicar e, posteriormente, colocados a enraizar, regenerando uma plântula (Figura 5). A micropropagação envolve quatro ou mais estágios para a produção de uma determinada planta. O estágio inicial é denominado estabelecimento ou indução, e é importante para se obter explantes livres de contaminação e também para se obter o desenvolvimento ou crescimento de novas partes. O segundo estágio é a multiplicação que, como o próprio termo indica, é a formação de brotações adventícias que se multiplicam exponencialmente. Essas brotações, se de tamanho apropriado, são transferidas para o enraizamento; caso contrário, são subcultivadas para um meio de cultura destinado ao alongamento.

Uma vez alongadas, as brotações são transferidas para o último estágio *in vitro* que é o de enraizamento (Figura 6). Após esse estágio, as plântulas produzidas são transferidas para a casa de vegetação, para um período de aclimatização.

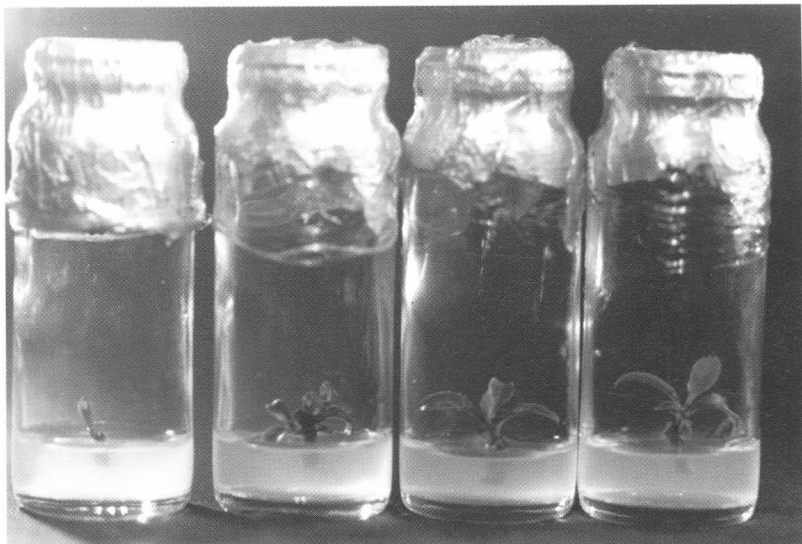


Foto: Maria Elisa C. Graça
Fernando R. Tavares

Fig. 5. Indução, multiplicação e alongamento da erva-mate durante o cultivo *in vitro*.

Embriogênese somática — Refere-se ao desenvolvimento de um embrião completo a partir de células vegetativas produzidas por vários tipos de explantes.

Cultura de meristemas — É o tipo de cultura onde são utilizados meristemas, que são uma pequena parte do ápice da brotação (normalmente entre 1 e 3 mm de comprimento) contendo folhas rudimentares. É utilizado para se obter plantas livres de vírus e outros patógenos.

Cultura de anteras e pólen — É utilizada para o melhoramento genético para se obter plantas haplóides.

Cultura de ovário e óvulos — É utilizada para investigar problemas de desenvolvimento de frutos e sementes, bem como o resgate de embrião.

Cultura de embrião — É utilizada para o resgate do embrião que, de outra forma, seria abortado.



Foto: Maria Elisa C. Graça
Fernando R. Tavares

Fig. 6. Enraizamento *in vitro* de *Eucalyptus dunnii*.

Cultura de calos — É feita em explantes *in vitro* resultados da injúria e de reguladores de crescimento. É um conjunto de células somáticas, cuja estrutura é de certa forma complexa com variações genética, morfológica e fisiológica.

Cultura de células em suspensão — Consiste em dissociar o calo de maneira a se obter um homogeneizado de células, que pode ser utilizado para a produção de metabólitos secundários, para explorar a variação somaclonal e para obtenção de protoplastos.

Cultura de protoplastos — Consiste em células vivas cujas paredes vegetais foram removidas enzimaticamente. O isolamento, o cultivo e a regeneração através dos protoplastos são importantes dentro da biotecnologia, pois permitem várias manipulações, como a combinação de dois núcleos ou dois citoplasmas ou mesmo a incorporação de um novo material genético (transformação gênica) no processo de engenharia genética.

Em todos os tipos de cultivo *in vitro* são utilizados meios de cultura cuja composição básica consiste de:

- Sais minerais: nessa categoria estão incluídos os macro e microelementos combinados em diferentes formulações para a máxima disponibilidade para o explante.
- Carboidratos: são os açúcares, sendo a sacarose a principal fonte utilizada. Os álcoois açucarados, inositol, manitol e sorbitol, além de constituírem fonte de carbono para as demais moléculas, constituem-se em fonte de energia e auxiliam na manutenção do equilíbrio osmótico.
- Reguladores de crescimento: as classes de reguladores mais importantes são as auxinas e citocininas, giberelinas, e, em um menor grau, o ácido abscísico e o etileno.
- Vitaminas: as mais utilizadas são a tiamina, o ácido nicotínico e a piridoxina. Outras vitaminas podem ser incluídas, dependendo do sistema utilizado.

- Aminoácidos e amidas: para determinadas espécies, há específicos aminoácidos requeridos, cuja função principal é servir como fonte de nitrogênio e substrato para outras substâncias.
- Substâncias de composição indefinida: são substâncias, como a água de coco, polpa de banana, extrato de levedura, hidrolisado de caseína, etc., cuja função é promover o desenvolvimento da cultura, que outras substâncias não conseguem fazer.
- Outros: substâncias, como ácido cítrico, ácido ascórbico, carvão ativado, cuja função é prevenir a oxidação dos tecidos.

Referências Bibliográficas

- COOPER, M.A. *Maximização do potencial de enraizamento de estacas de Eucalyptus dunnii* Maid. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1990. 75p. Tese Mestrado.
- DAVIDSON, J. Problems of vegetative propagation of *Eucalyptus*. In: WORLD CONSULTATION ON FOREST TREE BREEDING, 3., 1977, Canberra. *Constraints on progress*. Canberra: [s.n.], 1977. 25p.
- GEARY, T.F.; HARDING, W.G. The effects of leaf quantity and trimming on rooting success with *E. camaldulensis* Dehn. cuttings. *The Commonwealth Forestry Review*, v.63, n.3, p.225-230, 1984.
- HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES JUNIOR, F.T. *Plant propagation: principles and practices*. 5.ed. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1990. 647p.
- KARNOSKY, D.F. Potential for forest tree improvement via tissue culture. *BioScience*, v.31, n.2, p.114-120, 1981.

- PATON, D.M.; WILLING, R.R.; NICHOLLS, W.; PRYOR, L.D. Rooting of stem cuttings of *Eucalyptus*: a rooting inhibitor in adult tissue. *Australian Journal of Botany*, v.18, p.175-183, 1970.
- SILVEIRA, G.G. da. *Noções práticas de enxertia*. 5.ed. Rio de Janeiro: SIA, 1966. 69p.
- TAVARES, F.R.; PICHETH, J.A.; MASCHIO, L. M. de A. Alguns fatores relacionados com a estaquia da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) In: CONGRESSO FLORESTAL ESTADUAL, 7., 1992, Nova Prata. *Anais...* Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 1992. p.626-639.
- TAVARES, F.R.; COOPER, M.A.; CARVALHO, P.E.R. Propagação vegetativa de *Alnus subcordata* por estaquia. *Boletim de Pesquisa Florestal*, Curitiba, n.20, p. 61-66, 1990.
- WAREING, P.F.; PHILLIPS, I.D.J. *The control of growth and differentiation in plants*. 2.ed. Oxford: Pergamon, 1977. 347p.
- WILKINS, C.P.; CABRERA, J.L.; DODDS, J.H. Tissue culture propagation of trees. *Outlook on Agriculture*, v.14, n.1, p.2-13, 1985.
- WYK, G. van. Tree breeding in support of vegetative propagation of *Eucalyptus grandis* (Hill.) Maiden. *South African Forestry Journal*, n.135, p.33-42, dec. 1985.