

**INFLUÊNCIA DO GENÓTIPO, IDADE DA PLANTA MÃE E POSIÇÃO DO
EXPLANTE INICIAL, NA CAPACIDADE DE MULTIPLICAÇÃO *in vitro* DO
SOBREIRO (*Quercus suber* L.)^{*}**

Peixe, A.* (1); Cavaleiro, C. (2); Mendes, A. (3); Gonçalves, J.C. (4)

(1); (2); (3) Universidade de Évora - Dep. de Fitotecnia - Apartado 94 -- 7001 Évora-Codex
(4) Escola Superior Agrária de Castelo Branco - Lab. Biologia Vegetal -- 6000 Castelo-Branco

Resumo

O material vegetal utilizado foi recolhido em árvores adultas e em plantas provenientes da enxertia de árvores adultas sobre jovens plantas de origem seminal. Como explantes iniciais foram utilizados ramos do ano, tendo-se separado por grupos os explantes provenientes do gomo terminal e do primeiro, segundo e terceiro gomos axilares bem diferenciados. O meio de cultura utilizado foi o Woody Plant Medium (WPM), suplementado com $0,1 \text{ mg l}^{-1}$ de BAP, 7 g l^{-1} de Difco Bacto Agar e 20 g l^{-1} de sacarose. Foram encontradas diferenças significativas entre os genótipos, tanto ao nível da idade da planta mãe como da posição do gomo utilizado. Os resultados obtidos com as plantas enxertadas, foram sempre significativamente superiores aos obtidos com as árvores adultas. Quanto à posição relativa do gomo, verifica-se que tanto ao nível do abrolhamento, como ao nível das taxas de multiplicação, no primeiro subcultivo, os melhores resultados foram obtidos quando se utilizaram os gomos terminais. Note-se no entanto que estas diferenças inicialmente significativas, se encontram já bastante atenuadas ao nível do segundo subcultivo. Outro aspecto com interesse e que mostra a dificuldade para multiplicar *in vitro* o sobreiro através de rebentação axilar utilizando genótipos adultos, é dado pela percentagem de explantes não evoluídos, que chega a atingir os 75%. As plantas enxertadas apresentaram um comportamento bastante melhor a todos os níveis, o que nos leva a pensar na provável ocorrência de um rejuvenescimento dos tecidos, devido ao facto de a enxertia ter sido realizada sobre jovens plantas de semente.

Palavras-Chave: Sobreiro; Propagação; Cultura *in vitro*

• Financiado no âmbito do Projecto STRIDE 198/92/B/AGR

Introdução

O Sobreiro (*Quercus suber* L.) é uma das espécies florestais mais importantes no nosso país, tanto pela área que ocupa, como pelo seu extraordinário papel ecológico. Sendo uma espécie alogâmica e extremamente heterozigótica a multiplicação por via seminal de indivíduos interessantes pelas suas características produtivas, torna-se extremamente desaconselhável devido à grande heterogeneidade da descendência obtida. A propagação vegetativa apresenta-se pois como o processo mais interessante de multiplicação da espécie e a micropropagação poderá abrir novas perspectivas nesta área.

Os trabalhos mais recentes levados a cabo com vista à micropropagação do sobreiro, têm apresentado algum sucesso na multiplicação de plantas jovens (Pardos, 1981; Manzanera, 1992; Manzanera et Pardos, 1992), mas denotam extrema dificuldade quando se trata de utilizar como explantes iniciais material proveniente de árvores adultas (Manzanera, 1992; Manzanera et Pardos, 1992; Romano et Loução 1992). Os resultados até agora obtidos parecem indicar que, nesta espécie, assim como na maior parte das lenhosas, a resposta às condições de cultura, está directamente dependente de factores externos ao meio de cultura, de entre estes, salienta-se o genótipo, a idade da planta mãe e a posição relativa do explante original. Contribuir para melhorar as condições de multiplicação 'in vitro' de genótipos adultos de sobreiro, avaliar a capacidade da enxertia sobre plantas de semente como forma de rejuvenescimento de árvores adultas e testar a influencia da origem, e posição do explante inicial na modificação da aptidão para a cultura 'in vitro' são os objectivos deste trabalho.

Material e Métodos

Material vegetal:

Foram utilizados gomos terminais e segmentos nodais de ramos do ano, provenientes de árvores adultas (+ de 50 anos), de plantas enxertadas com 5 anos e de plantas enxertadas com 2 anos. Em qualquer dos casos utilizaram-se 2 clones que aparecem referidos como UE1 e UE2, para as árvores adultas os valores apresentados referem-se às médias obtidas com os dois clones em estudo, uma vez que o número de explantes evoluídos não permitiu a sua análise individual.

Desinfecção:

A desinfecção superficial do material vegetal, foi efectuada da seguinte forma:

- Benlate (50% de Benomil) 2 g^l -- 30 minutos
- HgCl₂ (0,1%) -- 2 minutos
- Hipoclorito de Cálcio (35% Cl activo) 0,5% -- 15 minutos
- Lavagens de 10 min em H₂O estéril.

Meio de Cultura:

Foi utilizado como meio de cultura o Woody Plant Medium (WPM) ao qual se adicionaram 0,1 mg l⁻¹ de BAP, o complexo de vitaminas de Manzanera (1991) e 2% de sacarose + 0,7% de Difco Bacto Agar, o pH foi ajustado a 5,7.

Condições de Cultura:

As condições de cultura foram as seguintes:

- Temperatura de dia - 24°C
- Temperatura de noite - 20°C
- Fotoperíodo - 16 horas
- Luz - 2500 lux

Delineamento Experimental :

O ensaio foi planeado segundo um esquema factorial que se desenvolveu da seguinte forma:

3 idades da planta mãe * 4 posições do explante inicial * 2 genótipos

Apresentam-se os resultados dos dois primeiros sub-cultivos, foram determinadas as taxas de multiplicação, comprimento médio dos rebentos, percentagens de explantes evoluídos e vitrificados. Os valores apresentados representam a média de 20 explantes por modalidade.

Resultados e Discussão

Os resultados que agora se apresentam para as variáveis em estudo, referem-se aos primeiro e segundo sub-cultivos. Quanto ao primeiro sub-cultivo, como se pode ver na Figura 1, a taxa de multiplicação foi extremamente influenciada tanto pela origem dos explantes como pela posição destes. Quanto ao primeiro aspecto, é visível que as plantas enxertadas com 2 anos, apresentam taxas multiplicação significativamente superiores às restantes, aproximando-se dos resultados obtidos por outros autores, para trabalhos com material juvenil. A posição do explante inicial também se mostrou de grande importância, sendo de notar os resultados obtidos com os explantes provenientes de gomos terminais, onde se obtém uma taxa de multiplicação significativamente superior à dos gomos axilares.

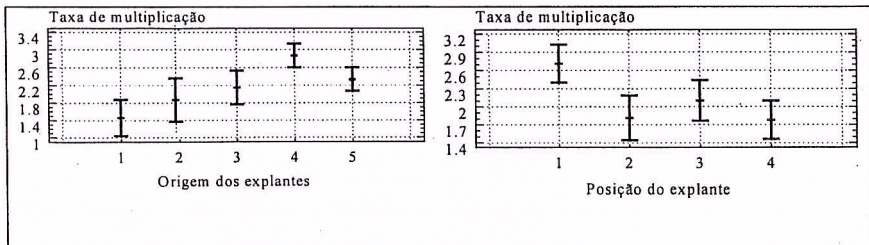


Fig. 1 . Valores das taxas de multiplicação, para o primeiro sub-cultivo, em função da origem e posição dos explantes utilizados (LSD-95%).

Legenda (Para todas as Figuras do Texto)

Origem do Explante:	Posição do Explante:
1-Árvores adultas	1. Gomo terminal
2- Clone UE1 , 5 anos após enxertia nodal	2. Primeiro segmento nodal
3- Clone UE2, 5anos após enxertia nodal	3. Segundo segmento nodal
4 - Clone UE1, 2 anos após enxertia segmento nodal	4. Terceiro segmento nodal
5 - Clone UE2, 2 anos após enxertia	

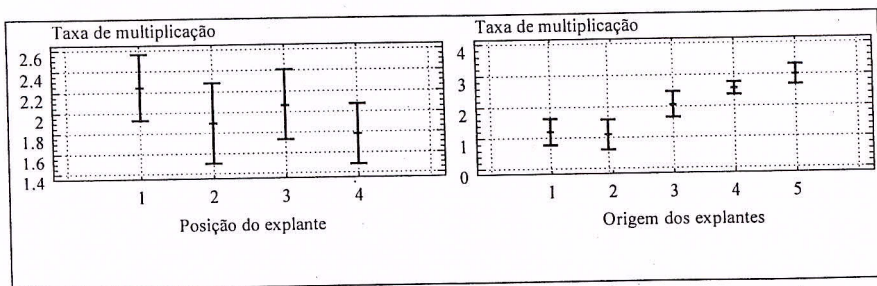


Fig. 2 - Valores das Taxas de Multiplicação para o segundo sub-cultivo , em função da origem e posição do explante inicial .

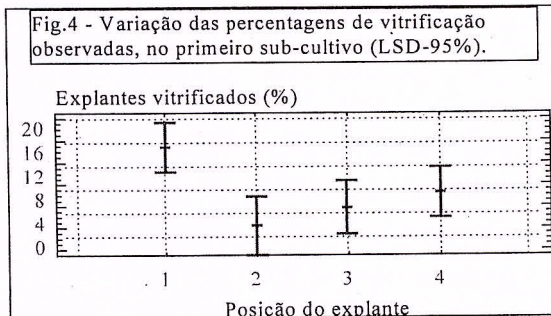
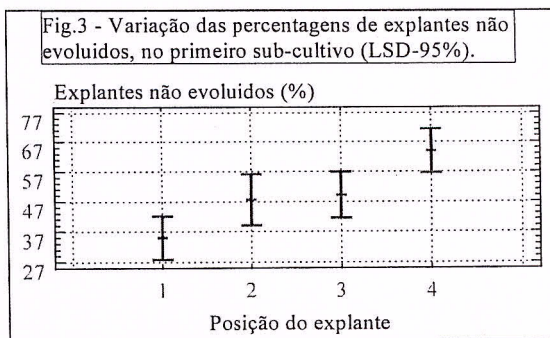
Na Figura.2, apresentam-se os valores da taxa de multiplicação referentes ao segundo sub-cultivo, como se pode observar, deixou de haver diferenças significativas para a variável posição do explante, mas mantêm-se e acentuam-se mesmo, as diferenças entre a origem dos explantes. É de notar o comportamento do clone UE2, que apresenta tanto para as plantas com 5 anos após a enxertia como para as plantas com 2 anos após a enxertia, diferenças significativas tanto em relação ao clone UE1, como em relação às árvores adultas. Este facto poderá ficar a dever-se tanto a uma maior capacidade natural de multiplicação deste clone, como a um maior índice de rejuvenescimento conseguido com a enxertia sobre jovens plantas de semente.

Na Figura.3, podem comparar-se as percentagens de explantes não evoluídos no primeiro sub- cultivo, em função da posição do explante utilizado.

Pode verificar-se que a utilização de gomos terminais como explantes iniciais, conduz a percentagens de evolução

significativamente superiores às conseguidas com os segmentos nodais. Entre estes últimos é notório o decréscimo de evolução à medida que se caminha para a base do ramo.

Os fenómenos de vitrificação são bastante comuns na cultura "in vitro" de plantas lenhosas. Como se pode ver na Figura.4, as percentagens de vitrificação não ultrapassaram neste caso os 17% no primeiro sub-cultivo, tendo o fenómeno ocorrido especialmente nos gomos terminais.



Conclusões

As taxas de multiplicação obtidas com a utilização de explantes provenientes de plantas enxertadas com dois anos, aproximam-se bastante das conseguidas por outros autores com material juvenil. Este facto leva a pensar na possibilidade de um rejuvenescimento efectivo da planta adulta, traduzido provavelmente numa alteração do seu equilíbrio hormonal.

Os efeitos da enxertia sobre a capacidade de multiplicação são transitórios e a sua reversibilidade depende directamente do genótipo utilizado.

A utilização de gomos terminais na fase de instalação das culturas, conduz a melhorias significativas nas taxas de multiplicação e nos ritmos de crescimento, quando comparadas com os valores obtidos a partir de gomos axilares. Para além destes aspecto

saliente-se ainda que as taxas de evolução conseguidas com a utilização de gomos terminais como explante inicial, são significativamente superiores às conseguidas com os gomos axilares. Ainda que não seja possível verificar este aspecto pelos resultados apresentados, poderemos referir que, em outros ensaios por nós realizados se encontra um aumento significativo das taxas de vitrificação dos explantes em cultura, sempre que se incrementa a concentração de BAP no meio de cultura.

Bibliografia

- Manzanera, J.A. - *Propagacion Vegetativa de Plantulas de Alcornoque (Quercus suber L.) por cultivo "in vitro"*, Invest.Agr.Prod.Veg. , 5 (3), 371-382, 1990.
- Manzanera, J.A.; Pardos, J.A. - *Micropropagation of Juvenil and Adult Quercus suber L.* , Plant Cell Tissue and Organ Culture, 21, 1-8, 1990.
- Romano, A. ; Noronha, C. ; Loução, M.A. - *Influence of Growth Regulators on Shoot Proliferation in Quercus suber L.*, Annals of Botany, 70, 531-536, 1992.