

# MICROPROPAGAÇÃO DE *Eucalyptus citriodora* E *Eucalyptus tereticornis*\*

David Nicolas Herrera Pinedo

Maria Elisa Cortezzi Graça

CNPF/EMBRAPA - Curitiba - Paraná - Brasil

Antonio José de Araújo

UFPR - Curitiba - Paraná - Brasil

## RESUMO

A micropropagação foi desenvolvida para *E. citriodora* Hook e *E. tereticornis* Sm. como alternativa aos métodos convencionais de propagação vegetativa. Segmentos nodais de cerca de 1 cm de comprimento obtidos de plantas de 12 até 30 meses de idade foram desinfestados e inoculados, para a indução do crescimento, no meio básico de M & S, suplementado com agar a 0,8% (p/v), sacarose a 2% (p/v), na ausência de reguladores de crescimento ou com BAP a 0,1 mg/l e 0,25 mg/l combinado com AIA a 0,01 ou 0,1 mg/l. A multiplicação foi avaliada em 3 experimentos compostos de várias concentrações de BAP combinados com AIA ou ANA. Para o alongamento das brotações foram utilizadas diferentes concentrações de GA<sub>3</sub> e carvão ativado (CA) no meio básico de M & S, acrescido de BAP e ANA, ambos a 0,1 mg/l. A maior indução e desenvolvimento

das brotações ocorreu nas combinações de BAP a 0,25 mg/l e AIA a 0,1 mg/l e 0,01 mg/l para explantes de *E. citriodora* e *E. tereticornis* respectivamente. A proliferação máxima das brotações (24,1 brotações/explante) de *E. citriodora* ocorreu com BAP a 1,0 mg/l e AIA a 0,1 mg/l, enquanto que para *E. tereticornis*, a taxa máxima (5,0 brotações/explante) foi obtida com 0,5 mg/l de BAP. A redução da concentração de BAP e ANA, ambas a 0,1 mg/l, resultou em brotações alongadas de *E. tereticornis*, sendo esta fase dispensável para *E. citriodora*. O enraizamento de 86,7% para *E. citriodora* e 100% para *E. tereticornis* foi obtido com o uso de 0,5 mg/l de AIB e 0,5 mg/l de ANA, respectivamente.

## ABSTRACT

An improved micropropagation procedure for mass clonal propagation of *Eucalyptus citriodora* Hook and *Eucalyptus tereticornis* Sm was obtained. Nodal segments were surface sterilized with 0.5% or 1.0% (v/v) NaClO for various periods of exposure and aseptically cultured on MS basal medium supplemented with 2% (w/v) sucrose and 0.8% (w/v) agar. At the growth induction and multiplication stages, various concentrations of BAP combined with IAA were used. For the multiplication stage of *E. tereticornis* different concentrations of NAA were included. At elongation stage, combinations of GA<sub>3</sub> and activated charcoal were added to the basal medium containing 0.1 mg/l BAP and NAA. Elongated shoots were rooted on a media containing different concentrations of NAA or IBA. Multiplication rates of *E. citriodora* were at maximum with 1,0 mg/l

\* Trabalho apresentado no 6.º Congresso Florestal Brasileiro, realizado em Campos do Jordão — São Paulo — Brasil, de 22 a 27 de setembro de 1990.

BAP and 0.1 mg/l IAA, whereas 0.5 mg/l BAP gave the highest rates for *E. tereticornis*. Elongated shoots of *E. tereticornis* were obtained on a medium containing 0.1 mg/l BAP and NAA, while this stage was not necessary for *E. citriodora*. Rooting percentages of 86.7% and 100% of *E. citriodora* and *E. tereticornis* shoots were obtained respectively, with additions of 0.5 mg/l IBA for the former and 0.1 mg/l NAA for the latter.

## 1 — INTRODUÇÃO

Os eucaliptos, como as demais espécies florestais, apresentam um longo ciclo de cultura fazendo do melhoramento genético um processo lento. A propagação vegetativa pode superar esse problema a medida que clones selecionados puderem ser propagados rapidamente para o estabelecimento de plantios comerciais. Os ganhos obtidos através da propagação vegetativa, quando genótipos superiores são propagados, são amplamente reconhecidos (NEL 1982; van WYK 1981; WILKINS et al 1981).

*Eucalyptus citriodora* Hook é largamente utilizado para a produção de energia e pelo conteúdo de óleo em suas folhas. Para fins energéticos, entre doze espécies de eucaliptos testadas, o *E. citriodora* foi o que apresentou madeira de maior densidade (STURION et al. 1987).

Por sua vez, *Eucalyptus tereticornis* Sm é uma espécie cujas utilizações incluem desde a fabricação de compensados, aglomerados, celulose e papel e até para a produção de biomassa. Por ser também resistente a pragas e doenças a deficiência hídrica (FERREIRA 1979) e se cruzar facilmente com várias espécies do gênero afins é indicada para a produção de híbridos em regiões secas.

A micropropagação é o único método para se propagar vegetativamente *E. citriodora* em larga escala, uma vez que a estaquia apresenta resultados insatisfatórios para essa espécie. Quando ao *E. tereticornis*, a micropropagação se constitui no método alternativo para uma multiplicação clonal rápida.

Até o momento, os estudos relatados não fornecem uma metodologia para regeneração de plântulas dessas duas espécies (SITA 1979; GREWAL et al. 1980) ou quando fornecem, o enraizamento é baixo e variável (GUPTA et al. 1981; CARPINETI & TRAVERSO 1987).

O presente trabalho teve como objetivo aperfeiçoar uma metodologia de micropropagação de plantas jovens de *E. citriodora* e *E. tereticornis*.

## 2 — MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Fonte de Explantes

Os explantes originaram-se de ramos apicais de plantas jovens de *Eucalyptus citriodora* Hook e *Eucalyptus tereticornis* Sm. de 12 meses até 30 meses produzidas a partir de sementes e cultivada sob condições de casa de vegetação.

### 2.2. Desinfestação dos Explantes

Segmentos nodais com cerca de 1 cm de comprimento foram colocados em uma solução de detergente comercial a 1,1% (v/v) por 30 minutos, lavados em água corrente e mergulhados em uma solução do fungicida comercial "benlate" (metil-1-(butilcarbamoil)-2-benzimidazol, carbamato) na concentração de 500 mg/l por 5 minutos.

Após a lavagem em água bidestilada, os explantes foram imersos em uma solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 0,5% de Cl-livre por 10, 20, 30 e 40 minutos ou a 1,0% de Cl-livre por 5 a 10 minutos acrescida de TWEEN-20 na concentração de 2 gotas/100 ml. Incluiu-se também, a testemunha desprovida de NaClO. Cada tratamento foi repetido 60 vezes.

Os explantes foram lavados em água bidestilada e esterilizada por 3 vezes e, posteriormente, inoculados no meio básico de cultura por 21 dias, onde foram avaliadas a contaminação, a oxidação e a porcentagem de explantes sadios.

### 2.2. Meios de Cultura

#### 2.2.1. Meio Básico

O meio básico utilizado foi o de MURASHIGE & SKOOG (1962) (MS) suplementado com sacarose a 2% (p/v) e solidificada com agar a 0,8% (p/v). O pH foi ajustado em 5,8 antes da esterilização.

#### 2.2.1.1. Indução de Brotações

Para a indução das brotações, os tratamentos constituíram 6-Benzilaminopurina (BAP) a 0,1 e 0,25-mg/l combinado ácido indole-3-acético (AIA) a 0,01 e 0,1 mg/l, além da testemunha (desprovida de reguladores de crescimento).

Decorridos 21 dias de cultivo avaliaram-se a porcentagem de brotações induzidas e o desenvolvimento. Os critérios adotados para as avaliações do desenvolvimento das brotações foram de acordo com o número de folhas lançadas, sendo que quatro classes de desenvolvimento foram utilizadas: a) FF (brotações com folhas fechadas); b) 1PFA (brotações com um par de folhas abertas); c) 2PFA (brotações com dois pares de folhas abertas); d) +3PFA (brotações com três ou mais pares de folhas abertas).

#### 2.2.1.2. Multiplicação

Foram utilizadas as combinações de BAP (0,5, 1,0 e 2,0 mg/l) e AIA (0,01 e 0,1 mg/l) e a testemunha. Devido ao reduzido número de repetições restantes para *E. tereticornis*, não foi possível avaliar este experimento, razão pela qual foram realizadas dois experimentos adicionais. No primeiro, incluíram-se o BAP a 0,1 mg/l e a ausência de AIA nas combinações acima citadas. No segundo, utilizaram-se as combinações de BAP (0,5, 1,0 e 2,0 mg/l) e ácido alfa-naftaleno acético (ANA) a 0,0, 0,01 e 0,1 mg/l e a testemunha (BAP a 0,5 mg/l e AIA a 0,1 mg/l).

A avaliação da taxa de multiplicação e da altura das brotações foi realizada aos 30 e 60 dias de cultivo.

### 2.2.1.3. Alongamento

Esta fase não foi necessária para o *E. citriodora* pois as brotações multiplicadas apresentaram uma altura adequada ao enraizamento. Para o alongamento de brotações de *E. tereticornis*, utilizaram-se combinações de ácido giberélico ( $GA_3$ ) (0,0, 0,1 e 1,00 mg/l) com carvão ativado (CA) a 0,0, 0,5 e 1,0% (p/v), sendo que todos os tratamentos foram suplementados com BAP e ANA, ambos a 0,1 mg/l.

Após 30 dias de cultivo, foram determinados o incremento em altura e o aspecto das brotações.

### 2.2.1.4. Enraizamento

Foram testados o ácido indol-3-butírico (AIB) a 0,5, 1,0 e 2,0 mg/l e ANA a 0,5 e 1,0 mg/l e a testemunha (sem regulador de crescimento). Como o ANA é uma auxina mais potente que AIB a concentração de 2,0 mg/l de ANA não foi incluída.

O enraizamento, através da porcentagem e do número de raízes foi avaliado aos 7, 14 e 21 dias de cultivo.

### 2.2.1.5. Delineamento Experimental e Análise Estatística

O delineamento de todos os experimentos foi completamente casualizado, com número de tratamentos e testes estatísticos específicos para cada experimento.

## 3 — RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1. Desinfestação dos Explantes

Todos os tratamentos de desinfestação dos explantes de *E. citriodora* e *E. tereticornis* foram eficazes no controle da contaminação em relação às testemunhas que apresentaram 100% e 98,3% respectivamente (Tabelas 1 e 2).

Para *E. citriodora*, apesar dos tratamentos 1, 4 e 5 fornecerem mais 50% de explantes saudáveis, o tratamento 1 resultou em uma maior porcentagem de explantes saudáveis (Tabela 1). Em relação ao *E. tereticornis* todos os tratamentos, a exceção da testemunha, apresentaram mais que 50% de explantes saudáveis (Tabela 2).

Em ambas espécies, a contaminação por fungos e bactérias foi baixa, quando comparadas com segmentos nodais de brotações epicórmicas de *E. grandis* (IKEMORI, 1987) sendo que o fator limitante para obtenção de explantes saudáveis neste estudo foi a oxidação destes causada pelo agente desinfestante sob diferentes períodos de exposição. Na concentração de 0,5% de NaClO, o aumento do período de exposição por mais de 10 minutos, causou um acréscimo na porcentagem de explantes de *E. citriodora* oxidados, enquanto que para explantes de *E. tereticornis* não houve uma tendência para as concentrações e períodos de exposição do agente desinfestante.

Os explantes de ambas espécies, por se constituírem de material jovem e serem retirados da parte apical da planta, são mais susceptíveis a oxidação, quando expostos a agentes desinfestantes, do que um material mais lignificado. Apesar dos explantes de *E. citriodora*

apresentarem uma maior pilosidade que os de *E. tereticornis*, fator que restringe a penetração do agente desinfestante, os primeiros eram mais tenros que os últimos e portanto, um período longo de exposição ao NaClO permitiu uma maior penetração deste nos tecidos, causando uma maior injúria e conseqüentemente uma maior oxidação. Essa tendência não foi verificada para explantes de *E. tereticornis*, que independente da concentração e do período de exposição ao NaClO, apresentaram uma oxidação igual ou maior que 20% (Tabela 2).

### 3.2. Indução das Brotações

Todos os tratamentos, inclusive a testemunha induziram o crescimento das brotações em explantes de *E. citriodora* resultando em média, mais de 70% de brotações induzidas (Tabela 3). Por sua vez, a porcentagem de gemas induzidas em explantes *E. tereticornis*, foi maior que a indução em *E. citriodora* com os limites de 78,9% de brotações induzidas com o uso de BAP e AIA, ambas a 0,1 mg/l e 92,4% com 0,25 mg/l de BAP com 0,01 mg/l de AIA, limites superiores aos verificados para *E. citriodora* (Tabela 4).

Quando se considerou o desenvolvimento das brotações como critério de indução, verificaram-se que T1 e T4 para *E. citriodora* (Tabela 2) e T1, T2 e T3 para *E. tereticornis*, (Tabela 4) foram os tratamentos que resultaram em porcentagens acima de 50% de brotações com dois a mais pares de folhas abertas.

Neste estudo o desenvolvimento das brotações foi o fator preponderante para o estabelecimento da fase subsequente, multiplicação das brotações, para ambas espécies. Quando foram utilizadas brotações pouco desenvolvidas sem folhas abertas ou com um par de folhas abertas para a multiplicação, estas não se adaptaram aos meios dessa fase e senesceram, resultando em um baixo número de repetições, na avaliação aos 30 dias. Possivelmente, brotações neste estágio de desenvolvimento não tenham acumulado os níveis endógenos de substâncias reguladoras de crescimento que as mais desenvolvidas, e conseqüentemente, quando subcultivadas para o meio de multiplicação, onde as concentrações dos reguladores de crescimento são mais altas, estas podem ter sido tóxicas nesses tipos de brotações.

### 3.3. Multiplicação das Brotações

A presença de reguladores de crescimento influenciou na multiplicação de brotações de *E. citriodora* (Figuras 1a e 1b). Aos 30 dias de cultivo as maiores taxas de multiplicação foram verificadas para as combinações de BAP a 0,5 mg/l com 0,1 mg/l de AIA e BAP a 1,0 mg/l com AIA a 0,1 mg/l (Figura 1a). Essa multiplicação ficou melhor diferenciada nos diferentes tratamentos aos 60 dias de cultivo, quando houve uma tendência de maior multiplicação com o uso da BAP a 1,0 mg/l e AIA a 0,1 mg/l (Figura 1b). Por outro lado, quando se elevou a concentração de BAP de 1,0 mg/l a 2,0 mg/l, a multiplicação diminuiu, independente do AIA utilizado.

Com o uso de BAP a 1,0 mg/l e AIA a 0,1 mg/l, o *E. citriodora* apresentou uma taxa de multiplicação de cerca de 25:1 em um período de 8 semanas. SITA

(1979) obteve uma multiplicação de 100 brotações/explante de *E. citriodora* em 4 meses, enquanto que com a taxa obtida no presente trabalho é possível obter 581 brotações/explante nesse mesmo período de tempo. Apesar da taxa obtida ser alta quando comparada com a taxa entre 3,5 e 5,0 obtida em 45 dias para *E. citriodora* (ENRAIZAMENTO... 1987), é importante salientar que a multiplicação *in vitro* depende também da espécie, das variações dentro de uma mesma espécie, condições de cultivo da planta doadora, e a idade do material. Para explantes de *E. citriodora* obtidos de plantas entre 24 e 36 meses de idade, idade também compreendida no presente estudo, GREWAL et al. (1980), obtiveram a formação de 150 brotações em meio modificado MS, com adição de BAP a 1,1 mg/l e AIA a 1,75 mg/l respectivamente; entretanto os autores não especificaram o período de tempo para obtenção das mesmas.

Em relação à altura das brotações de *E. citriodora* todos os tratamentos, a exceção da testemunha apresentaram brotações com altura superior a 1 cm sendo que na concentração de 0,5 mg/l de BAP com AIA a 0,1 mg/l uma maior porcentagem de brotações de maior altura foi verificada (Tabela 5).

Nessa combinação, cerca de 70% das brotações tiveram altura superior a 1 cm em contraste com 37,6% obtida no melhor tratamento de multiplicação (1,0 mg/l BAP e 0,1 mg/l e AIA). Entretanto, para utilização da primeira combinação haveria a necessidade de um período adicional de 30 dias de cultivo para o alongamento. Como na prática, a multiplicação é realizada em vários subcultivos, essa porcentagem pode ser obtida na multiplicação, dispensando assim o alongamento e tornando o processo mais econômico.

As maiores taxas de multiplicação para as brotações de *E. citriodora*, aos 60 dias de cultivo, foram obtidas com BAP a 0,5 mg/l nas diferentes combinações de AIA (Figura 2). O uso de BAP a 0,5 mg/l e AIA a 0,1 mg/l resultou na taxa de 2,5 brotações por explante, a maior obtida neste experimento. Essa taxa é considerada baixa para um período de 8 semanas. Em virtude desses resultados, foi realizado um outro experimento utilizando o ANA ao invés do AIA e o BAP a 0,5 mg/l com AIA a 0,1 mg/l, melhor combinação do experimento anterior, como testemunha.

Nesse experimento, tanto a testemunha e o tratamento envolvendo o uso de BAP a 0,5 mg/l e ANA a 0,01 mg/l resultaram nas maiores taxas de multiplicação com aproximadamente 3,0 brotações por explante (Figura 3a). Aos 60 dias de cultivo, as respostas dos tratamentos ficaram mais nítidas, sendo que o melhor tratamento foi o BAP a 0,5 mg/l, independente da auxina e suas concentrações, fornecendo uma taxa de 5 brotações por explante (Figura 3b). Esses resultados concordam com os obtidos por CARPINETI & TRAVERSO (1987) os quais também obtiveram uma taxa de 5:1 para explantes de *E. tereticornis* usando o meio MS com BAP a 0,5 mg/l e ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) a 0,3 mg/l.

O fato da testemunha ter apresentado o dobro da multiplicação neste experimento em relação ao anterior pode ser explicado pelo período de adaptação dos ex-

plantes aos reguladores de crescimento. GREWAL et al. (1980) verificaram que a produção de brotações múltiplas (3-10 brotações por explante) só ocorreu após a quinta subcultura, da mesma forma que IKEMORI (1987) conseguiu um enraizamento de 75% a 80% para brotações de *E. grandis* na 10.<sup>a</sup> subcultura.

Através das tabelas 2a e b, pode-se observar que tanto aos 30 como aos 60 dias de cultivo, respectivamente, as brotações apresentaram pouco crescimento em altura, sendo, então necessário que as brotações multiplicadas de *E. tereticornis* sejam subcultivadas em meio de alongamento para posterior enraizamento.

#### 4 — ALONGAMENTO DAS BROTAÇÕES DE *E. tereticornis*

A altura das brotações multiplicadas de *E. tereticornis* foi afetada pelos tratamentos utilizados (Figura 4). Maiores incrementos na altura das brotações foram obtidos quando o GA<sub>3</sub> e CA foram utilizados individualmente do que combinados.

Neste estudo, ao contrário do verificado por AHUJA (1985) no alongamento de brotações de *E. citriodora*, o uso do carvão ativado a 0,5 mg/l ou a 1,0% não teve um efeito benéfico no alongamento das brotações, causando uma deterioração em 75% das repetições e morte em algumas das várias brotações inoculadas por cada repetição.

Embora o GA<sub>3</sub> forneceu brotações mais alongadas que os demais tratamentos, estas se apresentavam estioladas; com coloração verde claro em relação a testemunha, considerada o melhor tratamento, pois continha brotações de verde mais intenso e menos deterioradas, que os demais tratamentos, apesar do incremento não ter sido o maior obtido.

O uso combinado do GA<sub>3</sub> e CA além de resultar em menores incrementos em altura das brotações de *E. tereticornis*, causou uma acentuada deterioração e morte das brotações. Na combinação de GA<sub>3</sub> a 0,1 mg/l e CA a 0,5% houve brotações deterioradas e mortas em 86% das respostas e quando se aumentou para 0,1 mg/l e 1,0% respectivamente, brotações deterioradas e mortas foram encontradas em 100% das repetições.

#### 5 — ENRAIZAMENTO

Maiores porcentagens de brotações enraizadas de *E. citriodora* foram obtidas com o AIB a 0,5 mg/l ou a 1,0 mg/l ou com ANA a 0,5 mg/l e após 21 dias de cultura (Tabela 7). Apesar do ANA e AIB ambos na concentração de 0,5 mg/l, produzir cerca de 80% de brotações enraizadas, quando se considera o número de raízes pode-se verificar que o AIB propiciou quase que o dobro de raízes formados que o ANA (Figura 5), constituindo-se dessa forma no melhor tratamento para o enraizamento de brotações de *E. citriodora*.

Todas as brotações de *E. tereticornis* enraizaram no meio contendo 0,5 mg/l de ANA aos 21 dias de cultivo (Tabela 8). Embora o número de raízes tenha sido maior com 1,0 mg/l de AIB, o acréscimo em termos práticos foi de apenas 20% em relação ao ANA a 0,5 mg/l (Figura 6).

Em relação ao período de enraizamento, verificou-se que o maior enraizamento (86,7%) das brotações de *E. citriodora* ocorreu aos 14 dias de cultivo, sem contudo apresentar diferenças marcantes após esse período. Para *E. tereticornis*, um acréscimo de 16,7% no enraizamento pode ser obtido, se as brotações forem cultivadas no meio com 0,5 mg/l de ANA por 21 dias.

## 6 — CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Neste trabalho, o aperfeiçoamento da micropropagação permitiu elevar a taxa de multiplicação de *E. citriodora* em relação aos resultados dos outros estudos relatados e também contemplou a regeneração de plântulas *E. tereticornis* por essa técnica. Através do emprego dos tratamentos abaixo relacionados, para cada fase é possível regenerar cerca de 15 e 5 plântulas de *E. citriodora* e *E. tereticornis* respectivamente, a partir de um único explante, considerando-se somente um ciclo de cultivo, ou seja, 104 dias para *E. citriodora* e 121 dias para *E. tereticornis*.

**Desinfestação:** imersão dos explantes em NaClO a 0,5% por 10 minutos, para ambas espécies.

**Indução do crescimento:** meio MS contendo 0,25 mg/l BAP e AIA a 0,1 mg/l para explantes de *E. citriodora* e 0,25 mg/l BAP e 0,01 mg/l da AIA para *E. tereticornis*.

**Multiplicação das Brotações:** BAP a 1,0 mg/l e AIA a 0,1 mg/l para *E. citriodora* e 0,5 mg/l BAP para *E. tereticornis*.

**Alongamento:** Esta fase não foi necessária para *E. citriodora*, enquanto que BAP a 0,1 mg/l com ANA a 0,1 mg/l e a combinação indicada para o alongamento de brotações de *E. tereticornis*.

**Enraizamento:** AIB a 0,5 mg/l e ANA a 0,5 mg/l *E. citriodora* e *E. tereticornis*, respectivamente.

## 7 — REFERÊNCIAS

AHUJÁ, A. *In vitro* shoot differentiation in *Eucalyptus citriodora* Hook: effect of activated charcoal. *Indian J. For.*, 8(4):340-341, 1985.

CARPINETTI, L. & TRAVESSO, J.R. Micropropagacion de *Eucalyptus tereticornis* IN: SIMPOSIO SOBRE SILVICULTURA Y MEJORAMIENTO GENETICO DE ESPECIES FORESTALES, Buenos Aires, 1987. *Anais...* Buenos Aires, CIEF, 1987. p. 45-50.

ENRAIZAMENTO de estacas e micropropagação de *Eucalyptus*. *Sol & Solo*, (15):1-4, 1987.

FERREIRA, M. *Escolha de espécies de eucalipto*. Piracicaba, IPEF, 1979. 29 p. (IPEF. Circular Técnica, 47).

GREWAL, S.; AHUJA, A. & ATAL, C.K. *In vitro* proliferation of shoot apices of *Eucalyptus citriodora* Hook. *Indian J. Exp. Biol.*, 18:775-77, 1980.

GUPTA, P.K. MASCARENHAS, A.F. & JAGANNATHAN, U. Tissue culture of forest trees — clonal propagation of mature trees of *Eucalyptus citriodora* Hook, by tissue culture. *Plant Sci. Lett.*, 20:195-201, 1981.

IKEMORI, Y.K. Epicormic shoots from the branches of *Eucalyptus grandis* as an explant source for *in vitro* culture. *Commonw. For. Rev.*, 66(4):351-356, 1987.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.*, 15:473-97, 1962.

NEL, P.M. Recent developments in biotechnology: Possible applications to forest tree breeding in Southern Africa. *S. Afr. For. J.*, (135):40-42, 1985.

SITA, G.L. Morphogenesis and plant regeneration from cotyledonary culture of *Eucalyptus*. *Plant. Sci. Lett.*, 14:63-8, 1979.

STURION, J.A.; PEREIRA, J.C.D.; ALBINO, J.C. & MORITA, M. Variações de densidade básica de madeira de doze espécies de *Eucalyptus* plantadas em Uberaba, MG. *Bol. Pesq. Flor.*, (14):28-38, 1987.

WILKINS, C.P.; CABRERA, P.P.L. & DODDS, J.H. Tissue culture propagation of trees. *Outlook Agri.*, 14(1):2-13, 1985.

WYK, G. WAN. Tree breeding in support of vegetative propagation of *Eucalyptus grandis* (Hill) Maiden. *S. Afr. For. J.*, (135):33-39, 1985.

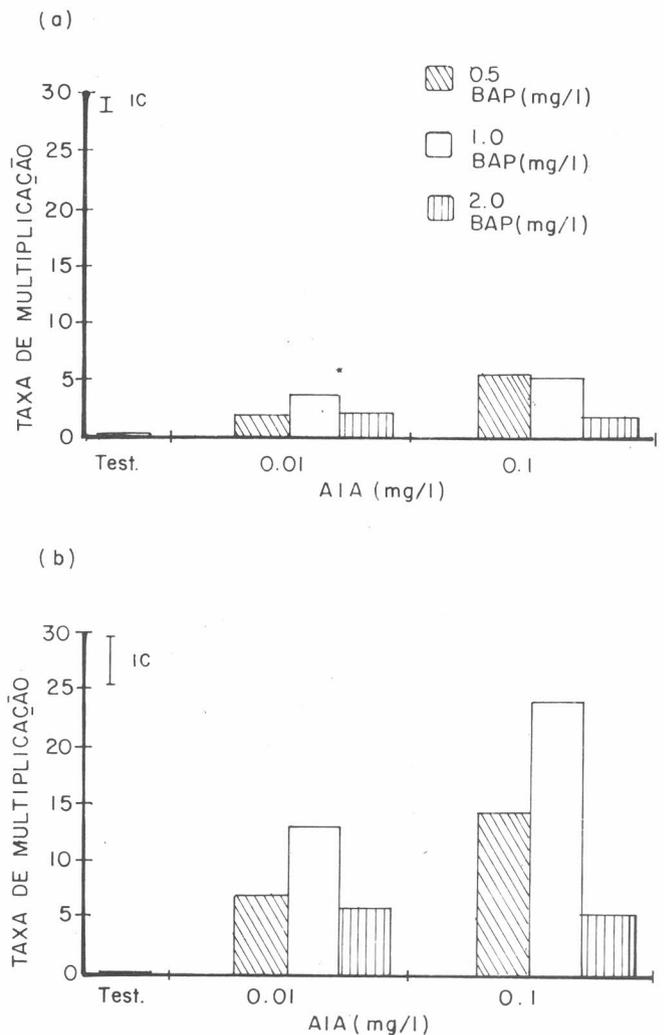


Figura 1: Efeito do BAP e AIA, na multiplicação das brotações de *E. citriodora*, aos 30 dias (a) e 60 dias (b) de cultivo. Linha vertical representa o intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

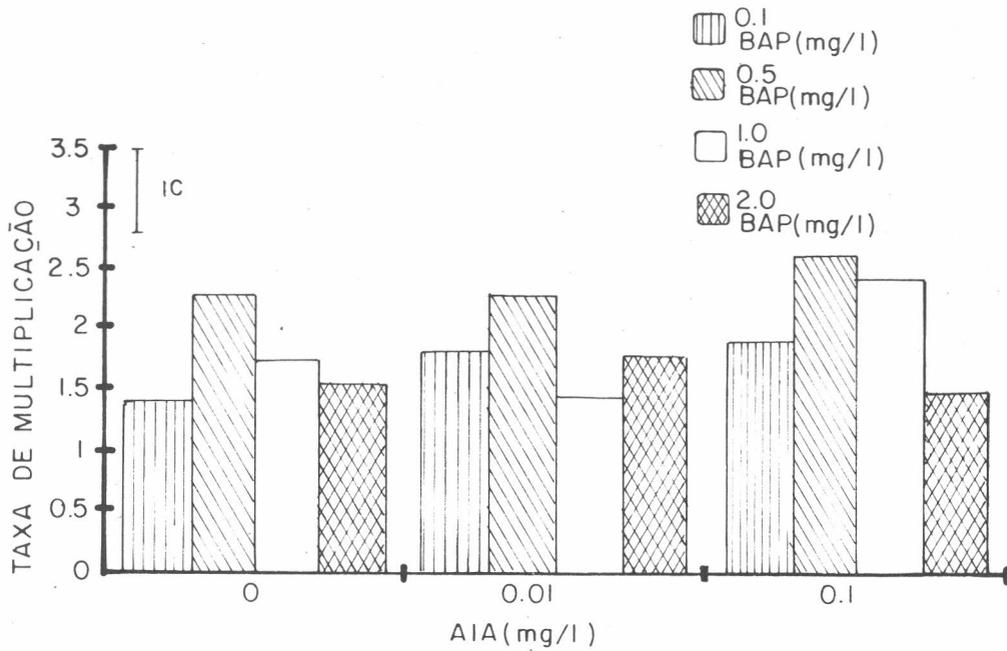


Figura 2: Efeito do BAP e AIA na multiplicação de brotações de *E. tereticomis* aos 60 dias de cultivo. Linha vertical representa o intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

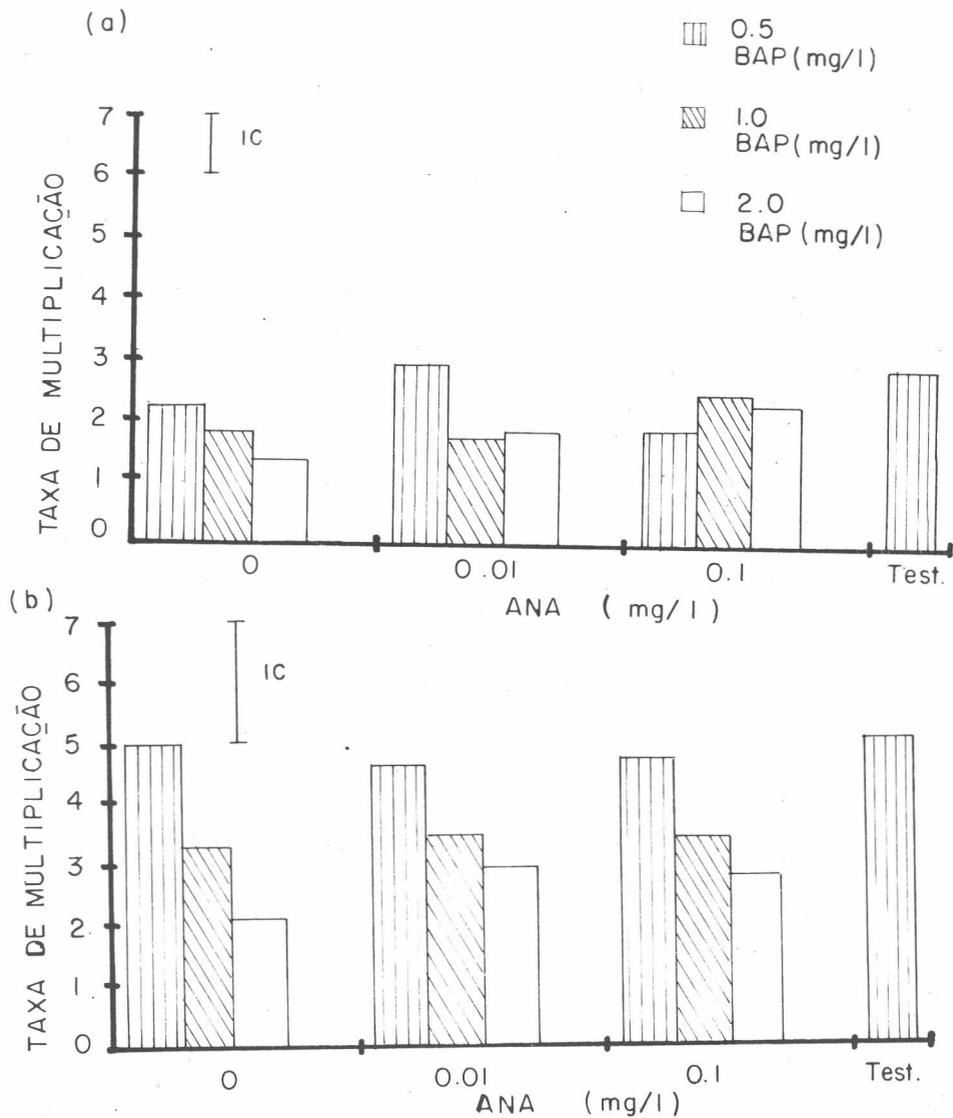


Figura 3: Efeito do BAP e ANA na multiplicação das brotações de *E. tereticomis*, aos 30 dias (a) e 60 dias de cultivo (b). Linha vertical representa o intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

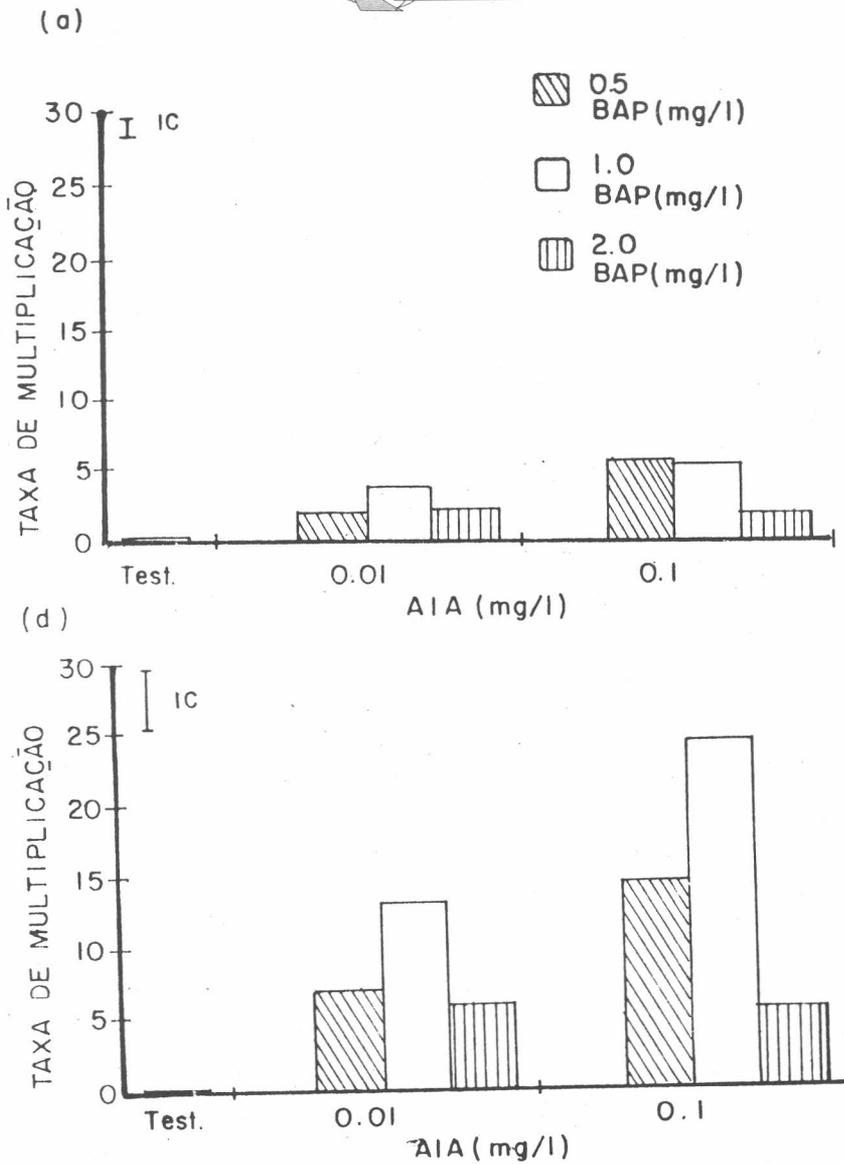


Figura 1: Efeito do BAP e AIA, na multiplicação das brotações de *E. citriodora*, aos 30 dias (a) e 60 dias (b) de cultivo. Linha vertical representa o intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

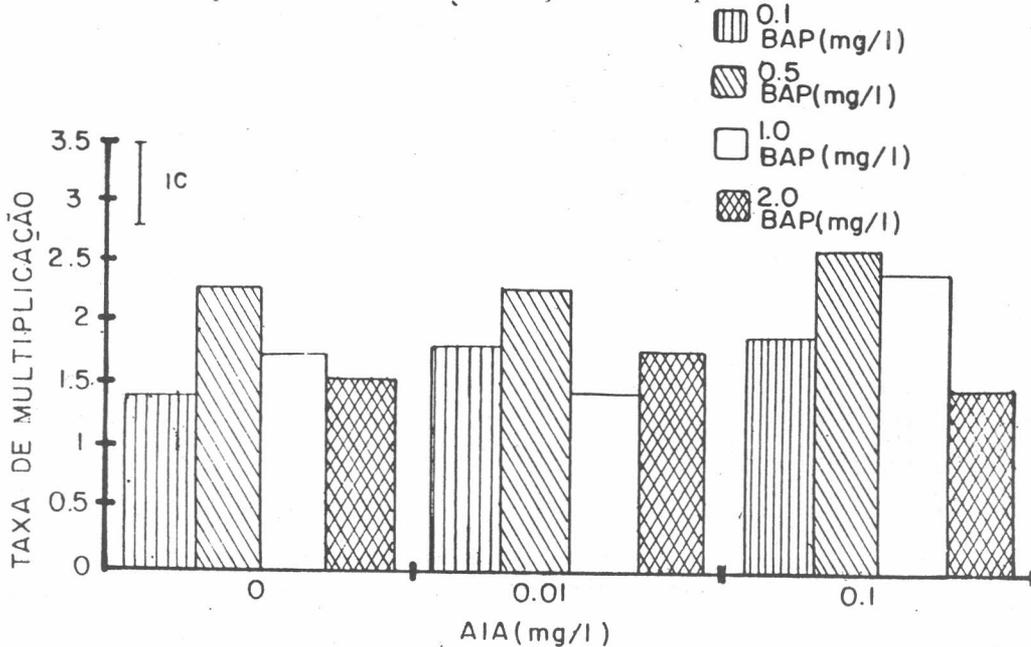


Figura 2: Efeito do BAP e AIA na multiplicação de brotações de *E. tereticomis* aos 60 dias de cultivo. Linha vertical representa o intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

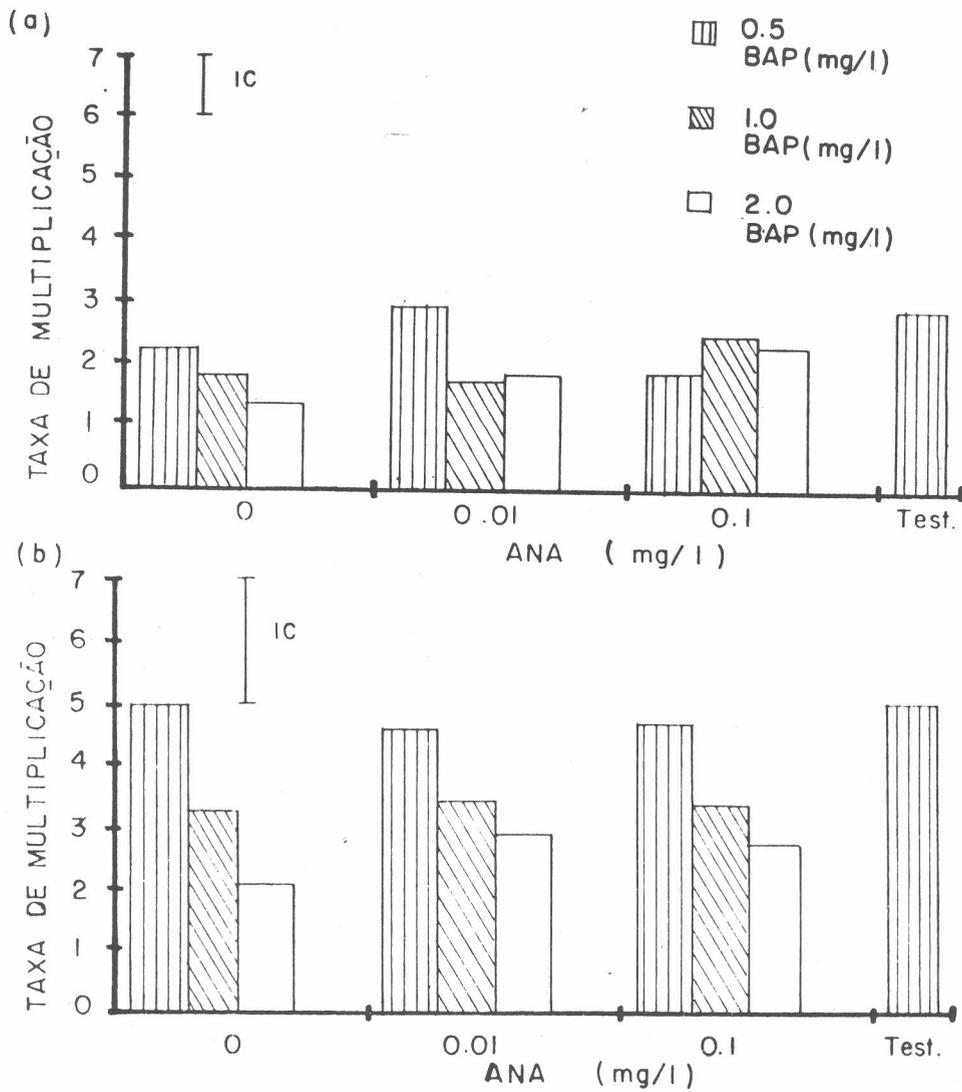


Figura 3: Efeito do BAP e ANA na multiplicação das brotações de *E. tereticornis*, aos 30 dias (a) e 60 dias de cultivo (b). Linha vertical representa o intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

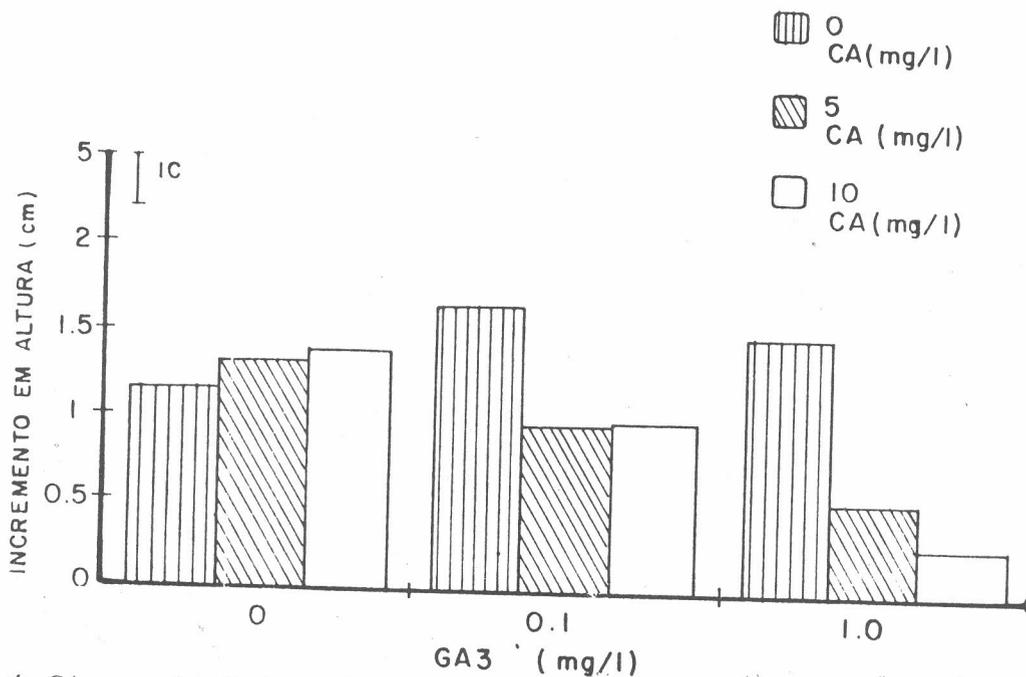


Figura 4: Efeito do GA<sub>3</sub> e carvão ativado no alongamento de brotações de *E. tereticornis*. Linha vertical representa o intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

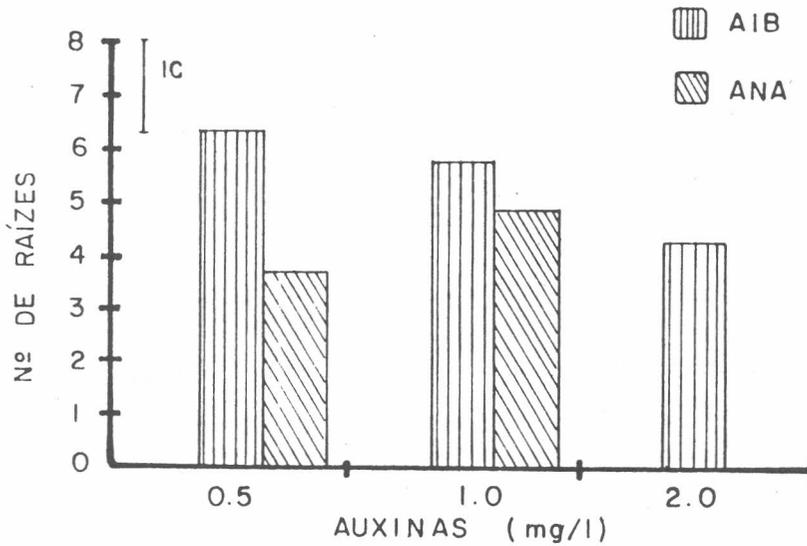


Figura 5: Efeito do AIB e ANA no número de raízes formadas de *E. citriodora*. Linha vertical representa o intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

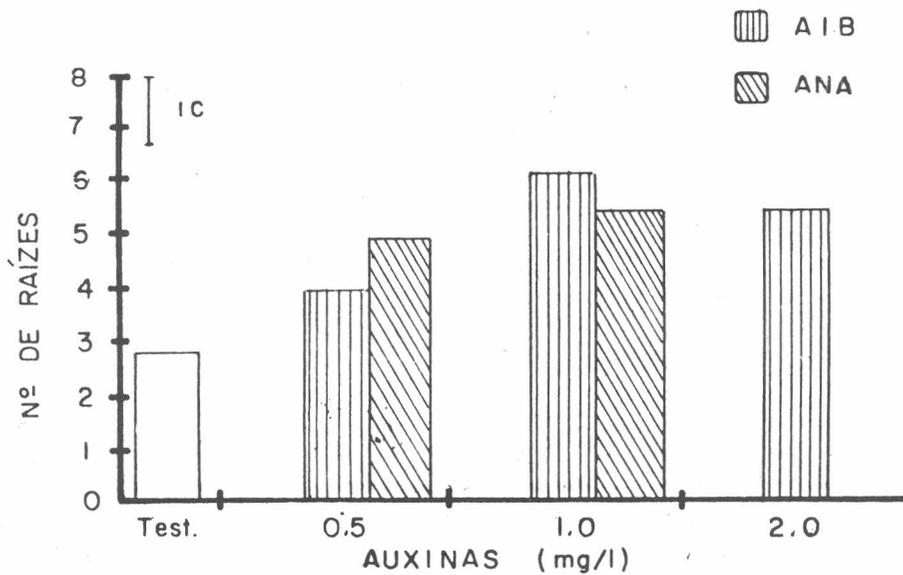


Figura 6: Efeito do AIB e ANA no número de raízes formadas de *E. tereticornis*. Linha vertical representa o intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

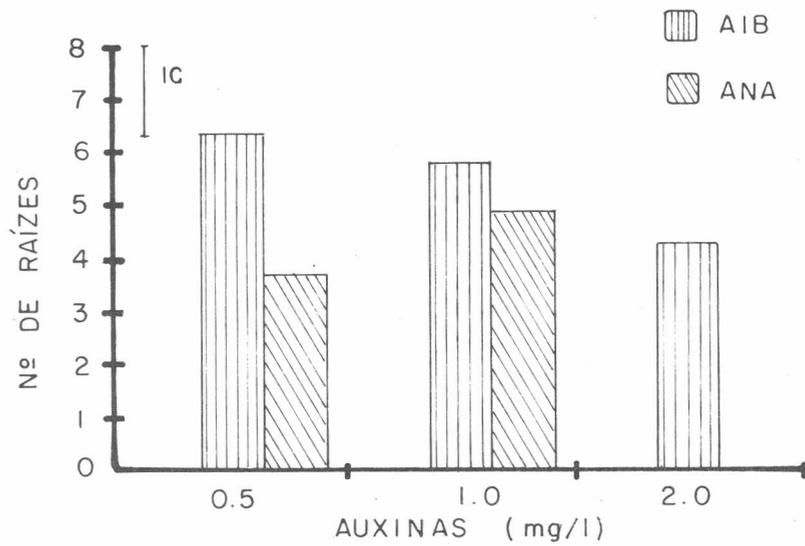


Figura 5: Efeito do AIB e ANA no número de raízes formadas de *E. citriodora*. Linha vertical representa o intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

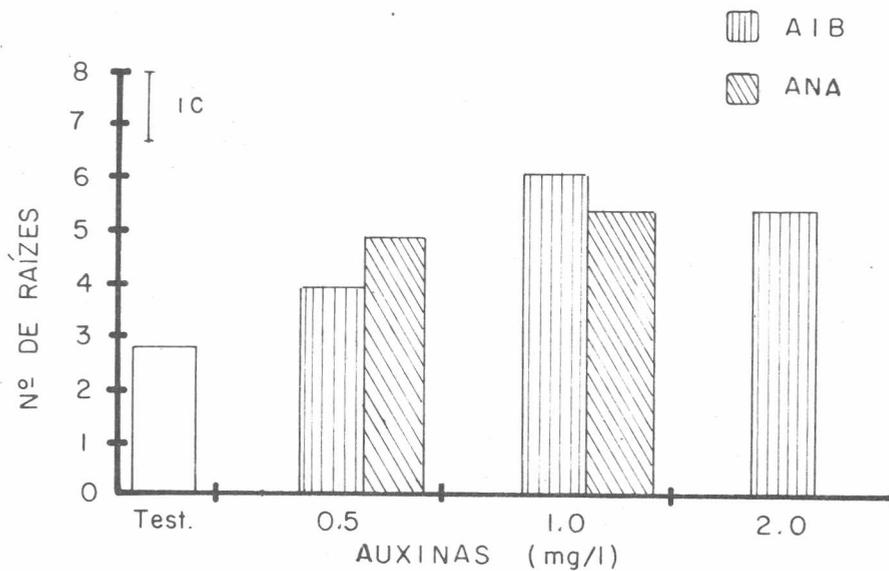


Figura 6: Efeito do AIB e ANA no número de raízes formadas de *E. tereticornis*. Linha vertical representa o intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

TABELA 1

EFEITOS DE CONCENTRAÇÕES E PERÍODOS DE EXPOSIÇÃO AO NaClO NA DESINFESTAÇÃO DE EXPLANTES DE EUCALYPTUS CITRIODORA, APÓS 21 DIAS DE ISOLAMENTO

NaClO %	Tratamentos Períodos de exposição Min.	Porcentagem		
		Contaminação	Oxidação	Explantos <sup>z</sup> sadios
T1 0,5	10	1,7	21,7	76,7 ± 10,8
T2 0,5	20	1,7	56,7	41,7 ± 12,6
T3 0,5	30	1,7	66,7	31,7 ± 12,0
T4 0,5	40	1,7	45,0	53,3 ± 12,8
T5 1,0	5	3,3	35,0	61,7 ± 12,6
T6 1,0	10	1,7	35,0	41,7 ± 12,4
T7 testemunha		100,0	0,0	0,0

z = Porcentagem média ± Intervalo de confiança (IC) ao nível de 95% de probabilidade.

TABELA 2

EFEITO DE CONCENTRAÇÕES E PERÍODOS DE EXPOSIÇÃO AO NaClO NA DESINFESTAÇÃO DE EXPLANTES DE *E. TERETICORNIS*, APÓS 21 DIAS DE ISOLAMENTO

NaClO %	Tratamentos Períodos de exposição min.	Contaminação	Porcentagem	
			Oxidação	Explantos <sup>z</sup> sadios
T1 0,5	10	5,0	33,3	61,7 ± 12,5
T2 0,5	20	0,0	35,0	65,0 ± 12,4
T3 0,5	30	1,7	46,7	51,7 ± 12,8
T4 0,5	40	0,0	35,0	65,0 ± 12,6
T5 1,0	5	0,0	38,0	61,7 ± 12,6
T6 1,0	10	5,0	30,0	65,0 ± 12,4
T7 testemunha		98,3	0,0	1,7 ± 3,4

z = Porcentagem média ± intervalo de confiança (IC) ao nível de 95% de probabilidade.

TABELA 3

EFEITO DE CONCENTRAÇÕES DE BAP E AIA NA INDUÇÃO DAS BROTAÇÕES EM EXPLANTES DE *EUCALYPTUS CITRIODORA*, APÓS 21 DIAS DE CULTIVO

	Tratamentos		Número de repetições	Brotações <sup>z</sup> induzidas %	Desenvolvimento			
	BAP mg/l	AIA			FF	1PFA %	2PFA	3PFA
T1	0,1	0,01	52	71,1 ± 12,6	35,1	13,5	29,7	21,6
T2	0,1	0,1	48	72,9 ± 12,8	31,9	25,7	29,8	14,3
T3	0,25	0,01	50	74,0 ± 12,4	37,8	45,9	8,1	8,1
T4	0,25	0,1	47	74,5 ± 12,6	14,3	28,5	25,6	31,4
T5	testemunha		48	68,8 ± 13,4	33,4	45,4	21,2	0

Z = Porcentagem média ± intervalo de confiança (IC) ao nível de 95% de probabilidade.

TABELA 4

EFEITO DE CONCENTRAÇÕES DE BAP E AIA NA INDUÇÃO DAS BROTAÇÕES DE *EUCALYPTUS TERETICORNIS*, APÓS 21 DIAS DE CULTIVO

	Tratamentos		Número de repetições	Brotações <sup>z</sup> induzidas %	Desenvolvimento			
	BAP mg/l	AIA			FF	1PFA %	2PFA	3PFA
T1	0,1	0,01	49	85,7 ± 10,0	2,4	7,2	30,9	59,5
T2	0,1	0,1	57	78,9 ± 10,8	2,2	6,7	17,7	73,2
T3	0,25	0,01	53	92,4 ± 7,2	2,0	8,1	32,6	57,1
T4	0,25	0,1	59	88,1 ± 8,4	11,5	17,3	21,5	50,0
T5	testemunha		59	84,7 ± 9,4	36,0	38,0	18,0	8,0

Z = Porcentagem média ± intervalo de confiança (IC) ao nível de 95% de probabilidade.

TABELA 4

EFEITO DO BAP E ANA NA ALTURA DAS BROTAÇÕES MULTIPLICADAS DE *E. TERETICORNIS*, AOS 30 DIAS (A) E AOS 60 DIAS (B) DE CULTIVO

(A)

Tratamentos		Número de repetições	Altura das Brotações		
BAP	ANA		< 1 cm	1-2 cm	> 2 cm
mg/l		%			
0,5	0	26	79,3	20,7	0
0,5	0,01	21	79,0	19,4	1,6
0,5	0,1	27	80,4	19,6	0
1,0	0	25	76,1	21,7	2,2
1,0	0,01	25	72,5	22,5	5,0
1,0	0,1	26	83,1	15,4	1,5
2,0	0	22	74,2	22,6	3,2
2,0	0,01	25	71,7	28,3	0
2,0	0,1	22	74,5	25,5	0
Testemunhas		25	82,2	11,0	6,8

(B)

Tratamentos		Número de repetições	Altura das Brotações		
BAP	ANA		1 cm	1-2 cm	2 cm
mg/L		%			
0,5	0	19	83,3	16,6	0
0,5	0,01	19	80,6	15,9	3,4
0,5	0,1	22	76,9	22,1	1,0
1,0	0	21	81,4	17,1	1,4
1,0	0,01	20	73,9	23,2	2,9
1,0	0,1	20	75,4	20,3	1,4
2,0	0	19	75,6	22,0	2,4
2,0	0,01	18	77,4	22,6	0
2,0	0,1	17	75,0	25,0	0
Testemunha		21	83,0	12,3	4,7

TABELA 5

EFEITO DO BAP E AIA NA ALTURA DAS BROTAÇÕES MULTIPLICADAS DE *EUCALYPTUS CITRIODORA* AOS 60 DIAS DE CULTIVO

Tratamentos		Número de repetições	Altura das Brotações		
BAP	AIA		< 1 cm	1-2 cm	> 2 cm
mg/l		%			
0,5	0,01	12	47,0	47,0	6,0
0,5	0,1	10	29,9	53,5	16,7
1,0	0,01	12	59,2	35,0	5,7
0,1	0,1	15	62,4	34,5	3,1
2,0	0,01	11	69,2	26,1	4,6
2,0	0,1	9	73,5	26,5	0,0
Testemunha			100,0	0,0	0,0

TABELA 6

EFEITO DO BAP E ANA NA ALTURA DAS BROTAÇÕES MULTIPLICADAS DE *E. TERETICORNIS*, AOS 30 DIAS (A) E 60 DIAS (B) DE CULTIVO

Tratamentos		Número de repetições	Altura das Brotações		
BAP	ANA		1-2 cm	2 cm	1 cm
mg/l		%			
0,5	0	26	79,3	20,7	0
0,5	0,01	21	79,0	19,4	1,6
0,5	0,1	27	80,4	19,6	0
1,0	0	25	76,1	21,7	2,2
1,0	0,01	23	72,5	22,5	5,0
1,0	0,1	26	83,1	15,4	1,5
2,0	0	22	74,2	22,6	3,2
2,0	0,01	25	71,7	28,3	0
2,0	0,1	22	74,5	25,5	0
Testemunha		25	82,2	11,0	6,8

(B)

Tratamentos		Número de repetições	Altura das Brotações		
BAP	ANA		1 cm	1-2 cm	2 cm
mg/l		%			
0,5	0	19	83,3	16,6	0
0,5	0,01	19	80,6	15,9	3,4
0,5	0,1	22	76,9	22,1	1,0
1,0	0	21	81,4	17,1	1,4
1,0	0,01	20	73,9	23,2	2,9
1,0	0,01	20	75,4	20,3	1,4
2,0	0	19	75,6	22,0	2,4
2,0	0,01	18	77,4	22,6	0
2,0	0,1	17	75,0	25,0	0
Testemunha		21	83,0	12,3	4,7

TABELA 7

EFEITO DO AIB E ANA NO ENRAIZAMENTO DE BROTAÇÕES DE *EUCALYPTUS CITRIODORA*

Tratamentos		Enraizamento <sup>z</sup>		
mg/l		%		
		7 dias	14 dias	21 dias
AIB 0,5		70,0 ± 16,0	86,7 ± 12,4	86,7 ± 12,4
AIB 1,0		46,7 ± 18,2	73,3 ± 16,2	80,0 ± 14,6
AIB 2,0		26,7 ± 16,2	50,0 ± 18,2	50,0 ± 18,2
ANA 0,5		70,0 ± 16,8	76,7 ± 15,4	80,0 ± 14,6
ANA 1,0		36,7 ± 17,6	53,2 ± 18,2	56,7 ± 18,0
Testemunha		0	0	0

z = Porcentagem média ± intervalo de confiança (IC) ao nível de 95% de possibilidade.

TABELA 8

EFEITO DO AIB E ANA NO ENRAIZAMENTO DE BROTAÇÕES DE *EUCALYPTUS DE RETICORNIS*

Tratamentos		Enraizamento <sup>z</sup>		
mg/l		%		
		7 dias	14 dias	21 dias <sup>z</sup>
AIB 0,5		0,0	56,7 ± 18,0	80,0 ± 14,6 <sup>z</sup>
AIB 1,0		0,0	46,7 ± 18,2	83,3 ± 13,6
AIB 2,0		0,0	50,0 ± 18,2	73,3 ± 16,2
ANA 0,5		0,0	83,3 ± 13,6	100,0
ANA 1,0		3,3	86,7 ± 12,4	93,3 ± 9,2
Testemunha		0	63,3 ± 17,6	66,7 ± 17,2

z = Porcentagem média ± intervalo de confiança (IC) ao nível de 95% de possibilidade.