



**ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA**  
**INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO**

**ENSAIOS DE MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO***  
**DE PLANTAS LENHOSAS**  
*( Liquidambar styraciflua L., Prunus lusitanica L. e*  
*Castanea sativa x C. crenata )*

**Engenharia de Produção Florestal**  
**Relatório do Trabalho de Fim de Curso**

*Brigite Roxo Botequim*

---

**CASTELO BRANCO**  
**1999**

## ÍNDICE

Agradecimentos	<i>iv</i>
Resumo e palavras chave	<i>vi</i>
Abstract and key-words	<i>vii</i>
Índice	<i>viii</i>

## I. INTRODUÇÃO 1

---

### 1. A Cultura de tecidos vegetais *in vitro*

<i>1.1. Aspectos históricos</i>	2
<i>1.2. Importância e aplicações actuais de cultura de tecidos</i>	4
<i>1.3. A micropropagação</i>	8
1.3.1. Caracterização da fase de multiplicação	14
1.3.2. Factores que influenciam a fase de multiplicação	17
1.3.2.1. Meios de cultura	17
1.3.2.2. Reguladores de crescimento	20
1.3.2.3. Hidratos de carbono	21
1.2.2.3. Dióxido de carbono	23
<i>1.4. Particularidades das espécies lenhosas</i>	25

### 2. Espécies em estudo 31

<i>2.1. Considerações gerais</i>	31
2.1.1. O azereiro	31
2.1.2. O castanheiro	34
2.1.3. O liquidambar	38

2.2. <i>Sistemas de multiplicação</i>	41
2.2.1. Técnicas convencionais	41
2.2.2. Sistemas <i>in vitro</i> – Micropropagação	46
<b>3. Objectivos do trabalho</b>	<b>50</b>
<b>II. MATERIAL E MÉTODOS DE CULTURA</b>	<b>51</b>
<hr/>	
<b>1. Material vegetal</b>	<b>52</b>
<b>2. Condições e meios de cultura para o estabelecimento</b>	<b>52</b>
<b>3. Fase de multiplicação</b>	<b>55</b>
3.1. <i>Formulações nutritivas</i>	56
3.2. <i>Reguladores de crescimento</i>	56
3.3. <i>Concentração de CO<sub>2</sub> e de sacarose</i>	57
3.3.1. Parâmetros quantificadores	58
<b>4. Expressão e interpretação dos resultados</b>	<b>59</b>
<b>III. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>61</b>
<hr/>	
<b>1. Influência do meio de cultura na multiplicação de <i>Liquidambar styracifua</i> e <i>Prunus lusitanica</i></b>	<b>62</b>
<b>2. Influência da concentração de BAP na multiplicação de <i>Liquidambar styracifua</i> e <i>Prunus lusitanica</i></b>	<b>76</b>
<b>3. Influência da concentração de CO<sub>2</sub> e de sacarose na multiplicação de <i>Castanea sativa</i> x <i>C. sativa</i></b>	<b>82</b>

<b>IV. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>94</b>
---------------------------------	-----------

<b>V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>99</b>
--------------------------------------	-----------

<b>VII. ANEXOS</b>	
--------------------	--

## Resumo

O presente trabalho envolveu a aplicação de técnicas de micropropagação por rebentamento axilar, tendo sido analisados vários factores que podem influenciar o tipo de respostas fisiológicas que ocorrem em liquidambar (*Liquidambar styraciflua* L.), azereiro (*Prunus lusitanica* L.) e em castanheiro (*Castanea sativa* x *C. crenata*), durante a fase de multiplicação *in vitro*.

Um dos objectivos consistiu na avaliação da influência de formulações nutritivas e da concentração de reguladores de crescimento em rebentos de liquidambar e de azereiro. Para tal, foram utilizadas duas formulações nutritivas, WPM e GD, associadas a 0,2 e 1 mg l<sup>-1</sup> de BAP. Da combinação de factores utilizados (meio + BAP), verificou-se que a WPM + 0,2 mg l<sup>-1</sup> se revelou mais adequada para propagar o liquidambar, enquanto que no azereiro foi a GD + 0,2 mg l<sup>-1</sup>.

Estudou-se também a influência de dois níveis de CO<sub>2</sub> (350 ul l<sup>-1</sup> e 700 ul l<sup>-1</sup>) e de quatro concentrações de sacarose (0, 10, 20, e 30 gl<sup>-1</sup>), na capacidade de induzir o desenvolvimento de rebentos de castanheiro híbrido. Em relação ao efeito de CO<sub>2</sub>, não se assistiu a diferenças assinaláveis entre as modalidades, embora aparentemente se tenha observado maior eficácia do CO<sub>2</sub> elevado. Relativamente às concentrações de sacarose, exceptuando a utilização de 0 gl<sup>-1</sup>, as restantes foram competentes para induzir o desenvolvimento dos rebentos, obtendo-se os melhores resultados na presença de 30 gl<sup>-1</sup>.

Na interacção CO<sub>2</sub>\*sacarose, enquanto que o CO<sub>2</sub> não afectou o desenvolvimento vegetativo, o factor sacarose demonstrou ser determinante no tipo de resposta regenerativa.

**Palavras chave:** Castanheiro; CO<sub>2</sub>; formulações nutritivas; *Liquidambar styraciflua*; micropropagação; multiplicação *in vitro*; *Prunus lusitanica*; reguladores de crescimento; sacarose.

**Abreviaturas:** WPM: Wood Plant Medium, McCown e Lloyd (1981);

GD: Greshoff e Doy (1972);

BAP: 6-benzilaminopurina.