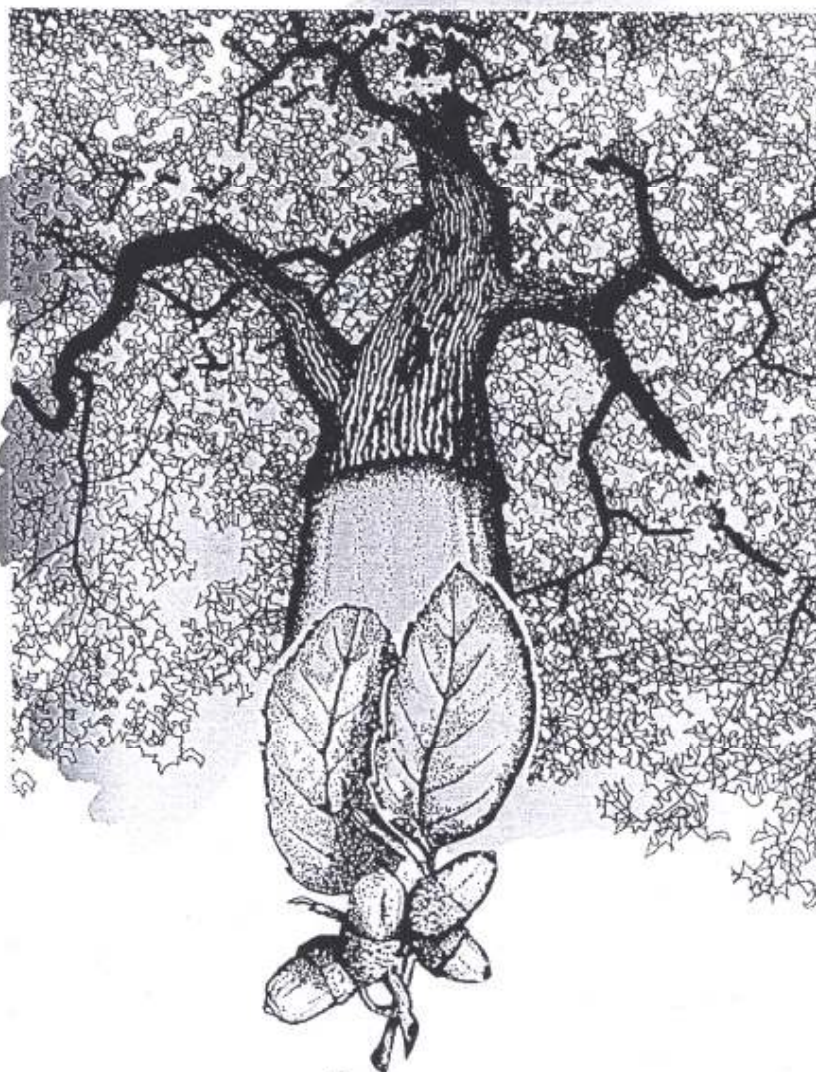


2.º ENCONTRO SOBRE OS MONTADOS DE SOBRO E AZINHO

4 e 5 Junho 1992



ÉVORA

TÉCNICAS DE PROPAGAÇÃO APLICADAS AO MELHORAMENTO DO SOBREIRO

**ROMANO, A., NORONHA, C., CAÇORINO, A.I., & MARTINS-
LOUÇÃO, M.A.**

Departamento de Biologia Vegetal, Faculdade de Ciências.
Universidade de Lisboa. Campo Grande Bloco C2. Piso 4. 1700 Lisboa.

SUMARIO

Neste trabalho apresentam-se os resultados referentes a técnicas de propagação aplicadas ao sobreiro, nomeadamente, estacaria e micropropagação. Nas condições ensaiadas, a estacaria deu resultados negativos. Aparentemente o enraizamento de estacas só é possível em material juvenil, o que inviabiliza a utilização desta técnica no melhoramento do sobreiro. Pelo contrário, a micropropagação pode desempenhar papel relevante. No presente trabalho foram desenvolvidas metodologias que permitem propagar explantados provenientes de material adulto seleccionado. Com esta técnica, partindo de 100 explantados podemos, potencialmente, colocar 1400 plantas no campo, ao fim de 6 meses.

INTRODUÇÃO

De todas as árvores mediterrânicas, o sobreiro é a que se encontra mais disseminada no nosso país indicando que, em tempos

remotos, terá ocupado lugar de grande relevo na arborização de Portugal. Actualmente grande parte do centro e litoral sul de Portugal é ainda dominado por comunidades semi-naturais e/ou por formações descontínuas de sobreiro, cultivado em regime de montado. O montado é uma paisagem tipicamente ibérica, de grande expressão em Portugal, ocupando o montado de sobreiro cerca de 660 mil hectares da superfície nacional (21,8% da área florestal) e produzindo cerca de 50% da cortiça consumida no mundo.

Os montados, na sua maioria de origem e renovação espontâneas, constituem um exemplo tradicional de florestas de uso múltiplo do tipo silvo-pastoril, mas por vezes também do tipo silvo-agrícola, com culturas sob-coberto. A importância económica da exploração dos montados de sobreiro reside essencialmente na produção de cortiça.

Estas comunidades semi-naturais constituem uma reserva muito valiosa de germoplasma que interessa conhecer melhor, conservar e utilizar na revitalização e no melhor aproveitamento desta espécie florestal e agro-florestal com tanto interesse ecológico, histórico-social e económico.

Crises de alguma gravidade parecem afectar ciclicamente os montados depauperando-os devido à morte precoce de muitas árvores o que se reflecte em importantes prejuízos económicos e ecológicos. Tal situação ocorre presentemente não só em Portugal mas também em Espanha e noutras zonas da área mediterrânica causando justificada preocupação. O montado encontra-se em estado de regressão tanto em extensão como em número de árvores. De entre os múltiplos problemas que afectam o sobreiro destacam-se a progressiva perda de qualidade da cortiça, a ausência quase absoluta de regeneração natural e o desconhecimento quase total da sua potencialidade produtiva.

É evidente que perante tal situação múltiplos inconvenientes se levantam para a subericultura. A regeneração de sobreiros a partir de sementes constitui até à data o único método de regeneração de povoamentos. Este método não permite, porém, qualquer critério de selecção uma vez que a regeneração natural por via seminal mantém muitos fenótipos desfavoráveis não garantindo a uniformidade da

descendência. De facto os produtos obtidos por via sexuada são instáveis e geneticamente distintos dos progenitores, em virtude da elevada heterozigose existente devido não só à hibridação com outras espécies do género *Quercus* mas também à alogamia característica desta espécie (Natividade, 1950).

Para além disso a produção de sementes constitui ela própria um problema, dada a sua escassa produção. A extensão da fase juvenil nesta espécie impede ainda a previsão a curto prazo das suas características de maior interesse, as quais só se revelam no estado adulto.

A necessidade de preservar e difundir esta espécie, que representa uma enorme riqueza para o nosso país, tem-se mostrado premente nos últimos anos uma vez que um número significativo de árvores entrou em decrepitude precoce, por causas ainda não completamente esclarecidas.

Tratando-se de uma espécie arbórea e de ciclo biológico muito longo, qualquer programa de melhoramento por via clássica, tem óbvias limitações. Dada a complexa constituição genética do sobreiro e a elevada heterogeneidade que a espécie apresenta, só a propagação vegetativa permite perpetuar as formas botânicas com maior interesse. Esta apresenta grandes vantagens relativamente à propagação sexual. Primeiro, porque reproduz integralmente o genótipo da árvore seleccionada segundo, porque produz indivíduos com uma grande homogeneidade, com todos os benefícios que isto representa a nível silvícola e industrial.

No entanto, o sobreiro não responde facilmente às técnicas de propagação vegetativa convencional, apesar das tentativas que neste campo têm sido desenvolvidas (Roldão *et al*, 1992). Daí a necessidade de desenvolver e aplicar técnicas de micropropagação que permitam estabelecer clones a partir de indivíduos seleccionados com características de árvores "plus". Não deixa porém de ser importante o estudo das condições ideais à propagação do sobreiro por estacas, já que a micropropagação é, dum modo geral, uma técnica bastante dispendiosa.

Neste sentido, nos últimos dois anos, o Departamento de Biologia Vegetal da Faculdade de Ciências de Lisboa, em colaboração com a empresa SOPORCEL, desenvolveu um projecto com o objectivo de estudar técnicas de propagação de plantas de sobreiro, quer através de estacas quer da cultura *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

ESTACARIA

Os ensaios de estacaria foram realizados em estufa de ambiente controlado nas mesas de enraizamento da Soporcel, de Fevereiro a Abril de 1990 e de Junho de 1991 a Dezembro do mesmo ano e repetidos mensalmente. No primeiro ensaio utilizou-se, como material vegetal, estacas de plantas jovens, provenientes de sementes germinadas em condições naturais. No segundo, estacas epicórmicas e não epicórmicas do ano. Usou-se Benlate (5 g/l) como tratamento fitossanitário. No tratamento hormonal empregaram-se reguladores de crescimento, aplicados por imersão da base da estaca, em pó comercial de Rhizopon ou em solução de IBA (ácido indol-butírico). Após o tratamento hormonal as estacas foram colocadas numa mistura de turfa + esferovite (40:60) em bancada aquecida. Os ensaios foram levantados ao fim de três meses.

CULTURA *IN VITRO*

Os passos necessários para conseguir a micropropagação de sobreiro revelam requisitos semelhantes a outras espécies lenhosas. Como explantado inicial utilizaram-se gemas dormentes de ramos da copa de árvores adultas que, em sucessivas tiradas de cortiça, demonstraram ser portadoras de genótipos superiores. Estes ramos sofreram pré-condicionamento e crescimento forçado nas condições anteriormente descritas (Romano & Martins-Loução, 1992).

Antes de inoculados os explantados sofrem ainda duas desinfecções sequenciais. Estas desinfecções superficiais, devido à sua

acção sinérgica, proporcionam 82% de explantados sem contaminantes nem problemas de oxidação. Após um mês de estabelecimento em meio de cultura de Gresshoff & Doy (1972) suplementado com BAP na concentração de 1 mg l⁻¹, os explantados entram em ciclo de multiplicação no mesmo meio básico, suplementado com BAP e IAA (Romano *et al.*, 1992). O enraizamento foi conseguido por imersão da base dos rebentos em solução concentrada de auxina, e posterior transferência para meio sem suplemento hormonal. A aclimação das plântulas foi conseguida em atmosfera húmida, com nevoeiro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

ESTACARIA

A técnica de estacaria usando material recolhido de plantas jovens apresentou pegamentos que variaram entre 5 e 25%, independentemente do tratamento hormonal efectuado ou da data do ensaio. A utilização quer de material adulto do ano quer de material rejuvenescido (rebentos epicórmicos) apresentou resultados negativos. Neste caso nem a utilização de material rejuvenescido proporcionou quaisquer resultados independentemente do efeito sazonal, do tratamento hormonal ou do substrato utilizado. Parece assim que a capacidade de enraizamento por estaca é apenas exclusiva do material juvenil o que inviabiliza a utilização desta técnica no melhoramento do sobreiro. Neste caso a micropropagação pode desempenhar papel relevante.

CULTURA *IN VITRO*

Os avanços no conhecimento da propagação vegetativa *in vitro* têm aumentado significativamente na última década. As técnicas de micropropagação têm sido aplicadas com sucesso à produção comercial de várias espécies vegetais e mais recentemente à

propagação de plantas lenhosas arbóreas com interesse económico. Actualmente é possível clonar, através de técnicas de cultura *in vitro*, espécies impossíveis de clonar *in vivo* pelos métodos clássicos.

As culturas foram iniciadas após pré-condicionamento dos explantados o que permitiu por um lado a cultura de gemas ao longo de todo o ano e por outro a redução de contaminantes (Romano & Martins-Loução, 1992).

Após um mês em estabelecimento, os explantados entram em ciclo de multiplicação, obtendo-se 4-5 rebentos por rebento inicial, em presença de citocininas e auxinas no meio de cultura (Romano *et al.*, 1992). O alongamento dos rebentos neo-formados, necessário para facilitar a sua separação, não apresenta dificuldades especiais quando o meio contém baixas concentrações de auxina e citocinina. À semelhança do que foi observado para outras espécies, o balanço auxina/citocinina é assim importante para a obtenção de numerosos rebentos e bem desenvolvidos. Alguns clones encontram-se em cultura há mais de dois anos sem perda aparente de características de crescimento e viabilidade.

Na fase de enraizamento obtiveram-se taxas de enraizamento da ordem dos 90%, ao fim de um mês em cultura. Apesar da aclimação ser a fase crítica de todo o processo, estando ainda em fase de optimização, conseguem obter-se 58% de plantas que ao fim de um mês podem ser transferidas para o viveiro.

O pré-condicionamento dos ramos e as contínuas subculturas originaram deste modo o rejuvenescimento dos explantados adultos, permitindo a produção, pela primeira vez, de material de *Quercus suber* pronto a passar para o campo. Estes resultados encorajam-nos a passar à fase de desenvolvimento tecnológico com o objectivo da micropropagação comercial da espécie. Actualmente, partindo de 100 explantados podemos potencialmente colocar 1400 plantas no campo, ao fim de 6 meses.

Pensamos deste modo contribuir com as bases mínimas necessárias para o desenvolvimento de uma subericultura prática e aplicável à escala real, para que, num futuro próximo, os novos

povoamentos sejam estabelecidos com plantas melhoradas obtidas a partir de material seleccionado.

REFERENCIAS

- GRESSHOFF, P.M. & C.H. Doy (1972).
Development and differentiation of haploid *Lycopersicon esculentum* (Tomato). *Planta* 170, 161-170.
- NATIVIDADE, J.V. (1950).
Subericultura, 387 pp. Ministério da Agricultura Pescas e Alimentação. Direcção Geral das Florestas. Lisboa.
- ROLDÃO, I.F., M.H. Alpuim & J. Böhm (1992).
Considerações sobre os resultados já obtidos na propagação vegetativa do sobreiro. Estacaria e enxertia. *Scientia gerundensis*, 18, 85-89.
- ROMANO, A. & M.A. Martins-Loução (1992).
Micropropagation of mature cork-oak (*Quercus suber* L.): Establishment problems. *Scientia gerundensis*, 18, 17-27.
- ROMANO, A., C. Noronha & M.A. Martins-Loução (1992).
Influence of growth regulators on shoot proliferation in *Quercus suber* L. *Annals of Botany* (in press)