

**SINTETIZAÇÃO DE HÍBRIDOS DE *Eucalyptus* POR
CRUZAMENTO CONTROLADOS****SYNTETIZATION OF HYBRIDS OF *Eucalyptus* BY CONTROLLED
CROSSINGS**

Teotônio Francisco de Assis¹ João F. dos Santos Bauer²
Geraldo Tafarel²

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo estabelecer um método funcional de hibridação intercruzar algumas espécies de *Eucalyptus*. Os resultados mostraram a viabilidade de sintetização de híbridos inter e intraespecíficos mediante a utilização de metodologia simplificada, mais adequada do ponto de vista operacional. Foi constatado para *E. tereticornis* que a emasculação deve ser feita sem o corte do anel estaminado, e a possibilidade de armazenamento da flor inteira, sem extrair o pólen, até um período de 12 meses, com viabilidade em níveis adequados, para as espécies de *Eucalyptus* estudadas.

Palavras-chave: hibridação; cruzamento controlado; armazenamento de pólen; *Eucalyptus*.

ABSTRACT

This research had for objective to establish a functional hybridization method to intercross some species of *Eucalyptus*. The results showed the viability of inter and intraspecific hybrids synthesizing using a simplified methodology, more appropriate for the operational point of view. It was verified that for *E. tereticornis* the emasculation must be done without cutting the staminal ring, and the possibility of storing the whole flower, for up to 12 months, maintaining a satisfactory viability level, for the *Eucalyptus* species studied.

Keywords: hybridization; controlled crossing; pollen storage; *Eucalyptus*.

1 Engenheiro Florestal, MSc., Técnico da Empresa Riocell S.A., Rua São Geraldo, 1680, CEP 92500-000, Guaíba (RS), Brasil.

2 Técnicos Agrícolas, Empresa G&J – SERTEFE, Rua Bento Gonçalves, 211, CEP 96760-000, Tapes (RS), Brasil.

INTRODUÇÃO

A sintetização de híbridos inter e intraespecíficos no gênero *Eucalyptus* tem assumido destacada importância dentro dos programas de melhoramento genético deste gênero. A possibilidade de associação de características diferenciadas em espécies importantes, bem como a manifestação de heterose verificada no cruzamento entre vários pares de espécies têm levado as melhorias de *Eucalyptus* a buscar na hibridação um meio mais rápido de promover o melhoramento de características florestais desejáveis.

A viabilidade do aproveitamento comercial de heterose, verificada em vários cruzamentos, bem como de perpetuação e multiplicação de combinações híbridas superiores, por intermédio da propagação clonal, possibilitou a adoção da hibridação como ferramenta importante na produção de florestas de qualidade superior.

Os objetivos do presente trabalho foram produzir híbridos entre algumas espécies do gênero *Eucalyptus*, testando a metodologia usual de cruzamentos controlados, nas condições climáticas de Barra de Ribeiro - RS, e um método simplificado de armazenamento de pólen para o estabelecimento de um sistema operacional de produção de híbridos.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A hibridização tem sido utilizada, por exemplo, para transferir resistência ao cancro do eucalipto para *E. grandis*, mediante o seu cruzamento com *E. urophylla* (MARTINS & IKEMORI, 1987); para transferir tolerância à geada para *E. globulus*, em cruzamento com várias espécies tolerantes (ORME & HETHERINGTON, 1991); e para associar maior produtividade florestal com maior densidade da madeira, envolvendo espécies como *E. grandis*, *E. urophylla*,

E. pellita, *E. resinifera*, *E. camaldulensis*, *E. tereticornis*, *E. robusta*, *E. saligna*, *E. paniculata* (ASSIS, 1985).

Por outro lado, a manifestação de heterose tem sido observada em vários cruzamentos. Chaperon (1977) observou a existência de heterose para incremento volumétrico, adaptação e densidade da madeira em cruzamentos de *Eucalyptus* 12 ABL X *E. saligna* e *E. platiphyllo* X *E. urophylla* feitos no Congo. Heterose tem sido verificada também em cruzamentos de *E. grandis* X *E. urophylla* (CAMPINHOS Jr. & IKEMORI, 1977), *E. citriodora* X *E. toreliana* (ASSIS, 1985) e em vários híbridos espontâneos originados de cruzamentos ao acaso por polinização livre (ASSIS, 1986).

Vários cruzamentos híbridos têm sido conseguidos por polinização livre, mediante plantios intercalados de espécies compatíveis (ODA & FERREIRA, 1987; ASSIS, 1987). Contudo, esta técnica não permite o cruzamento entre espécies que florescem em períodos diferentes, além de produzir sementes puras das espécies parentais misturadas com as sementes híbridas, o que exige seleção no viveiro para agrupar os indivíduos híbridos.

A obtenção de sementes híbridas, através de polinização controlada, também tem sido conseguida em um grande número de espécies compatíveis (ASSIS, 1987; MARTINS & IKEMORI, 1987 E ORME & HETHERINGTON, 1991). As vantagens deste método consistem não a possibilidade de produzir híbridos entre espécies que florescem em diferentes épocas e a produção apenas de sementes híbridas.

A metodologia utilizada na realização dos cruzamentos controlados entre espécies com diferentes épocas de floração exige a coleta, beneficiamento e armazenamento de grãos de pólen. Os métodos de extração mais utilizados são a seco, conforme descrito por Hodgson (1967) e Van Wyk (1977) e extração úmida através de filtragem a vácuo (GRIFFIN et al., 1983).

Nos dois métodos, há necessidade de muito manuseio como corte para individualização das anteras, peneiramento e filtragem, com um aproveitamento pequeno de pólen, dificultando a operacionalidade do trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização dos cruzamentos controlados foram utilizados enxertos em floração das espécies progenitoras femininas. Como fonte de pólen utilizaram-se enxertos e árvores floridas em áreas pertencentes à Riocell S.A., localizadas em Guaíba-RS.

Emasculação

Botões florais próximos ao atingimento de antese (último opérculo floral parcialmente aberto) foram selecionados. Eliminaram-se as folhas, flores abertas e botões florais imaturos que se encontravam nas proximidades dos botões a serem emasculados. Os botões foram então emasculados através do corte e remoção do anel estaminal, tomando-se as precauções necessárias para evitar danos à cápsula floral.

Isolamento

Depois da emasculação, os botões florais foram protegidos com um tubo costurado, de tecido não tramado, tendo como suporte uma armação de arame de alumínio em espiral. Antes do fechamento das extremidades do tubo de tecido, foi aplicado um fino jato de água sobre a superfície do estigma para evitar a ocorrência de fecundação por pólen indesejável.

Coleta, Beneficiamento e Armazenamento de Pólen

Ramos contendo botões florais maduros, ou próximos a atingirem a maturidade, foram colhidos e transportados até a casa de vegetação, tendo suas extremidades basais mergulhadas em recipientes com água. À medida que ficavam maduros os botões eram colhidos, sendo pré-secos em câmara seca por 12 horas. Após este período, os botões eram colocados em dessecador por mais de 16 a 24 horas para completar o processo de secagem. Depois de secos, os botões florais inteiros, dentro de frascos bem vedados, eram congelados a -16°C . A diferença deste método em relação aos demais é a não necessidade de extração dos grãos de pólen, sendo a flor armazenada inteira.

Polinização

Em virtude de que as flores das espécies de *Eucalyptus* são protândricas (os grãos de pólen tornam-se maduros antes do ponto de receptividade do estigma), a polinização era feita entre 5 a 7 dias após a antese. Quando as espécies a serem intercruzadas floresciam na mesma época, era utilizado pólen fresco e, em situações de distintas épocas de florescimento, pólen armazenado. Para a polinização uma das extremidades do saco de armazenamento era aberta e o pólen depositado na superfície do estigma receptivo pela fricção das anteras sobre o mesmo. Após a polinização, o saco de isolamento era novamente fechado e retirado duas semanas mais tarde. Entre o 6° e o 10° mês após a polinização, as sementes híbridas foram colhidas, época em que se avaliaram os resultados dos cruzamentos.

Nas espécies *E. urophylla* e *E. grandis*, quando utilizadas como progenitoras femininas, foram emasculados, isolados e não polinizadas alguns botões florais, no sentido de monitorar a ocorrência de eventuais contaminações.

Para avaliar a perda de viabilidade de pólen armazenado pelo método da flor inteira, ao longo do período de estocagem,

foram feitas polinizações periódicas, observando-se o desempenho dos grãos de pólen em termos do vingamento dos cruzamentos feitos com várias espécies.

Além dos cruzamentos entre as espécies puras foram utilizados indivíduos híbridos, tanto como progenitores masculinos quanto femininos. Nestes cruzamentos, os objetivos eram produzir indivíduos triespecíficos, cruzando-se um híbrido com uma terceira espécie e também promover o retro cruzamento cruzando-se um híbrido com um pai recorrente.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Os índices de vingamento dos botões florais polinizados, que resultaram efetivamente em frutos com sementes híbridas, estão dentro dos padrões normais para as espécies inter cruzadas (Tabela 1). Desta forma, a metodologia empregada é adequada para a produção de híbridos entre as mesmas. Exceção se fez apenas para *E. tereticornis*, verificada nos cruzamentos com *E. grandis* e com *E. globulus* é explicada pelo fato de que essa espécie possui frutos com válvulas exclusivas. Neste tipo de fruto, o corte do anel estaminal danifica a cápsula floral provocando o abortamento dos frutos durante seu desenvolvimento. Para espécies como o *E. tereticornis*, a emasculação deve ser feita evitando-se o corte do anel, cortando-se ou arrancando-se diretamente os estames.

Espécies de frutos muito pequenos, como o *E. dunnii*, também exigem maiores cuidados na manipulação. Qualquer torção do pedúnculo do botão floral ou uma flexão do mesmo pode provocar sua queda precoce.

TABELA 1: Porcentagem de vingamento dos diversos cruzamentos.

TABLE 1: Percentage of success of several crosses.

Espécie Feminina	Espécie Masculina	Número de Botões Polinizados	Número de Frutos Produzidos	% Vingamento
<i>E. grandis</i>	<i>E. globulus</i>	13	07	53,8
<i>E. grandis</i>	<i>E. urophylla</i>	277	142	51,2
<i>E. grandis</i>	<i>E. tereticornis</i>	51	11	21,5
<i>E. grandis</i>	<i>E. robusta</i>	75	19	25,3
<i>E. grandis</i>	<i>E. dunnii</i>	216	93	43,0
<i>E. urophylla</i>	<i>E. grandis</i>	149	106	71,1
<i>E. urophylla</i>	<i>E. globulus</i>	142	64	45,0
<i>E. urophylla</i>	<i>E. dunnii</i>	166	61	36,7
<i>E. urophylla</i>	<i>E. saligna</i>	185	93	50,3
<i>E. urophylla</i>	<i>E. tereticornis</i>	121	75	61,9
<i>E. tereticornis</i>	<i>E. grandis</i>	928	20	2,1
<i>E. tereticornis</i>	<i>E. globulus</i>	1.605	44	2,7
<i>E. saligna</i>	<i>E. globulus</i>	120	70	58,3
<i>E. robusta</i>	<i>E. globulus</i>	66	34	51,5
<i>E. (grandis x urophylla)</i>	<i>E. globulus</i>	250	02	32,8
<i>E. (grandis x urophylla)</i>	<i>E. grandis</i>	528	151	28,6
<i>E. (urophylla)</i>	<i>E. (grandis x urophylla)</i>	339	243	42,2
<i>E. dunnii</i>	<i>E. grandis</i>	394	73	18,5
<i>E. dunnii</i>	<i>E. urophylla</i>	159	33	20,7
<i>E. urophylla</i> (botões emasculados -07)	0	0	0	
<i>E. grandis</i> (botões emasculados -44)	0	0	0	0

A variação relativamente grande observada nos diferentes cruzamentos deveu-se, principalmente, aos seguintes fatores: Influências das condições climáticas no dia da polinização e os diferentes graus de viabilidade dos grãos de pólen, consequências dos diferentes períodos de armazenamento.

As espécies utilizadas no monitoramento da ocorrência de contaminações, as quais tiveram suas flores emasculadas, isoladas e não polinizadas, mostraram que o método de isolamento foi eficiente, no sentido de evitar o afluxo de pólen externo (Tabela 1).

A perda de viabilidade do pólen de *E. urophylla* armazenado pelo método da flor inteira, sem extração, é mostrada na Figura 1. Após 12 meses de armazenamento, o desempenho do pólen armazenado caiu de 70 para 20%. Embora, a redução tenha sido grande, a viabilidade do pólen que proporciona 20% de vingamento dos cruzamentos pode ser considerada razoável.

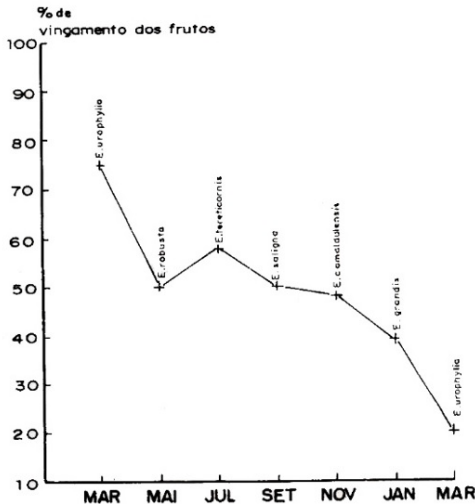


FIGURA 1: Desempenho médio "in vitro" do pólen de *E. urophylla* armazenado por 12 meses a -16°C sem extração em distintos cruzamentos.

FIGURE 1: Mean performance 'in vitro' of the pollen of *E. urophylla* stored for 12 months at -16 °C without extractions in distinct crosses.

A menor viabilidade do pólen armazenado junto às anteras pode ser compensada pela maior quantidade de pólen aplicada sobre a superfície do estigma e apesar da maior perda de viabilidade do pólen armazenado por este método, a facilidade e a simplicidade do manuseio apresentados, tornam-no mais indicado para trabalhos operacionais de cruzamentos controlados e para trabalhos de pesquisa cujo armazenamento seja inferior a 12 meses.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos com este trabalho, concluiu-se que a sintetização de híbridos por polinização controlada, empregando-se a metodologia descrita, é viável para a maioria das espécies de *Eucalyptus*, testadas. No caso de *E. tereticornis* recomenda-se a emasculação sem cortar o anel estaminal.

O armazenamento da flor inteira, sem extrair o pólen, conserva sua viabilidade em níveis adequados para trabalhos operacionais e de pesquisa que não exijam seu armazenamento por período superior a 12 meses.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSIS, T.F. Hibridação na Acesita Energética S.A. In: SIMPÓSIO SOBRE TENDENCIA DO DESENVOLVIMENTO FLORESTAL BRASILEIRO, 1985, Piracicaba, **Anais...** Piracicaba, IPEF, 1985, 18p.

ASSIS, T.F. Melhoramento genético de Eucalipto: Cultura do Eucalipto. **Informativo Agropecuário**, v.141, p.36-46, 1986.

ASSIS, T.F. Produção de híbridos interespecíficos em *Eucalyptus* spp. In: REUNIÃO SOBRE TÉCNICAS DE PRODUÇÃO DE HÍBRIDOS, 1987, Piracicaba, **Anais...** Piracicaba, IPEF, 1987. p.2-5.
CAMPINHOS, Jr.; IKEMORI, Y.K. **Tree improvement program of *Eucalyptus* spp.** Preliminary results. In: WORLD CONSULTATION

ON FOREST TREE BREEDING, 3, 1977, Canberra. 1977. 22p. (FO-FTB-77-3/21).

CHAPERON, H. **Amelioration genetique des *Eucalyptus* hibrides an Congo Brazzaville**. In: WORLD CONSULTATION ON FOREST TREE BREEDING, 3, 1977. 16P. (FO-FTB-77-4/27).

GRIFFIN, R.A. Processing *Eucalyptus* Pollen for use in controlled pollination. **Silvae Genetica**, v.31, n.5/6, p.306-308, 1983.

HODGSON, L.M. The breeding of *Eucalyptus* in south Africa. **Forestry in South Africa**, v.8, p.31-42, 1967.

MARTINS, F.G.; IKEMORI, Y.K. Produção de híbridos de eucalipto na Aracruz. In: REUNIÃO SOBRE TÉCNICAS PARA PRODUÇÃO DE HÍBRIDOS, 1987, Piracicaba, **Anais...** Piracicaba, IPEF, 1987. p.15.

ODA, S.; FERREIRA, M. Produção de híbridos interespecíficos de *Eucalyptus* por polinização aberta. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 4, **Silvicultura**, São Paulo, 1987. p.407-408.

ORME, R.K.; HETHERINGTON, S.J. Benefits of hybridization for the temperate eucalypts. In: INTENSIVE FORESTRY: THE ROLE OF EUCALYPTS, **Anais...** Durban: IUFRO, 1991. P.168-275.

VAN WYK, G. Pollen handling, controlled pollination and grafting of *Eucalyptus*. **South Africa Forestry Journal**, v.101, p.45-53. 1977.