

INFLUÊNCIA DO SISTEMA DE COLETA DE BOTÕES FLORAIS NA VIABILIDADE DE PÓLEN DE *Eucalyptus* spp

ANA LUISA DE MORAES MENCK
SHINITIRO ODA
EDSON LUIZ MARCHI
MARIA ELISA KOVALSKI
Cia. Suzano de Papel e Celulose
08600 - Suzano, SP.

ABSTRACT - This present paper has the objective to contribute in obtaining the adequate stage of floral bud collection, in order to increase the pollen viability in different species of *Eucalyptus*. The floral buds were collected from several trees of ***E. grandis***, ***E. smithii***, ***E. dunnii***, ***E. brassiana***, ***E. urophylla*** and ***E. camaldulensis***. Pollen was extracted from buds collected directly in the field and indirectly from buds open in the green house. The results showed sensible increase on the pollen viability when the indirect collection system was utilized, mainly for species which showed no definite maturation stage and with a long maturing period.

RESUMO - O presente trabalho tem por objetivo contribuir na obtenção do estágio adequado de coleta dos botões florais, para aumentar a viabilidade do pólen de diferentes espécies de *Eucalyptus*. Foram avaliados pólenes das espécies ***E. grandis***, ***E. smithii***, ***E. dunnii***, ***E. brassiana***, ***E. urophylla*** e ***E. camaldulensis***, extraídos de botões florais diretamente do campo e de botões florais abertos em casa de vegetação (coleta indireta). Os resultados mostraram sensível incremento na viabilidade do pólen quando se utilizou a coleta indireta, principalmente para espécies que apresentaram o estágio de maturação não definido e de longa duração.

INTRODUÇÃO

A crescente utilização de áreas de baixo potencial para reflorestamento faz com que grande esforço seja despendido no sentido de encontrar material com boa produtividade para todo o ciclo.

O melhoramento genético muito tem contribuído para atingir estes objetivos, quer seja na produção de indivíduos superiores selecionados e principalmente para condições problema, produção de novas variedades através da recombinação de caracteres pela hibridação interespecífica.

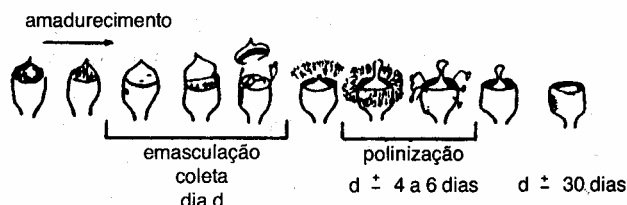
A hibridação controlada é uma técnica que possui inúmeras vantagens na síntese de híbridos, pois, além de proporcionar o conhecimento da capacidade geral e/ou específica de combinação das matrizes, possibilita o cruzamento entre parentais que apresentam defasagem na floração.

Entretanto, a utilização de técnicas não adequadas de coleta, transporte, extração e armazenamento de pólen pode comprometer sua viabilidade, e, conseqüentemente, dificultar a produção de híbridos interespecíficos.

O presente trabalho visa, especificamente, contribuir na obtenção do estágio adequado de coleta de botões florais, para melhorar a viabilidade do pólen de diferentes espécies de **Eucalyptus** spp.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O estágio ideal de coleta de pólen de **Eucalyptus** é quando os botões florais se encontram em antese (CAUVIN,1984; TIBBITS, 1989; GRIFFIN & HAND, 1979; HODGSON, 1976; PRYOR, 1976 e BODEN, 1958) isto pode ser caracterizado pela queda do segundo opérculo do botão floral (Vide esquema 1) que, para diversas espécies, coincide com a mudança de coloração do opérculo.



Esquema 1 - Fenologia da flor: período de emasculação/coleta e polinização (Fonte - CAUVIN, 1984)

HODGSON (1976), estudando alguns aspectos de florescimento e comportamento reprodutivo do **E. grandis**, observou que a queda do opérculo está associada à mudança de coloração do verde para o amarelo. A queda do pólen ocorre 2 dias após a antese.

CAUVIN (1984), em trabalhos de hibridação controlada com **E. gunnii**, envolvendo 10 espécies como progenitor masculino, recomenda a coleta dos ramos floríferos quando os opérculos estão amarelos e próximos à deiscência.

Para o **E. nitens**, TIBBITS (1989) considerou como botões maduros para polinização, os que apresentavam opérculo com coloração mudando do verde para o amarelo avermelhado e de fácil remoção.

A coleta do ramo floral no estágio ideal (antese) é impraticável, visto que há riscos de contaminação com pólen estranho e, geralmente, nem todas as flores de uma mesma bela estão num mesmo estágio de desenvolvimento, conduzindo assim a um baixo rendimento.

As alternativas são: a) Coleta direta no campo de botões florais com aspecto de amadurecimento;

b) Coleta indireta de botões florais abertos em casa de vegetação.

GRIFFIN (1982), CAUVIN (1984), SOUZA (1988), CANGIANI (1988) e TIBBITS (1989) utilizaram o método indireto de coleta de botões florais, enquanto que BORGES, et alii (1973) e ASSIS (1985) utilizaram a coleta direta.

VAN WYK (1981) cita que o pólen pode ser separado pelos dois procedimentos, porém, o processo de coleta da flor, dois dias depois de aberta, terá maior liberação de pólen.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados ramos florais com botões próximos a antese e por espécie/procedência, segundo as listadas no quadro abaixo.

Quadro I - Número de árvores coletadas por espécie/procedência.

Espécie	Local de plantio	Origem	Nº Árvores
E. grandis	P.S. Botucatu-SP	Coff's Harbour	3
E. smithii	A.P.S. - S.M Arcanjo-SP	Mittagong	2
E. dunnii	A.P.S. - Itatinga-SP	Coff's Harbour	2
E. brassiana	Arboreto - Itapetinga-SP		4
E. urophylla	P.S. - Angatuba-SP	Timor	4
E. camaldulensis	B.C. - Itapetininga-SP	Petford	2

Obs.: *A.P.S. - Área de Produção de sementes

P.S. - Pomar de sementes

B.C. - Banco Clonal

METODOLOGIA

Coleta dos botões florais

T¹ - Coleta direta -os pólenes (anteras) foram extraídos de botões com aspecto de amadurecimento, imediatamente após coleta;

T² - Coleta indireta -ramos florais com aspecto de amadurecimento foram coletados, retiradas as flores abertas e botões verdes, e colocados num recipiente com água em casa de vegetação sem irrigação. Os pólenes (anteras) foram extraídos de flores à medida em que estas iam se abrindo.

Secagem e armazenamento de pólen

Após extração dos estames (filetes e anteras) os mesmos foram separados em peneira (malha 0,59 mm) e secos em câmara seca por um período variável de 24 a 48 h, dependente da espécie (até liberação do pólen pela antera).

Teste de viabilidade do pólen

Os pólenes (anteras) secos foram colocados sobre meio de cultura, composto de 2% de ágar e 30% de sacarose, em lâmina. Foram preparadas 4 lâminas por tratamento elevadas

para germinar em estufa encubadora a 25°C por 48 h (Fotoperíodo -12 h. luz -12 h. escuro).

Foram avaliados 10 campos por lâmina, em lupa com aumento de 400 x, sendo contados os grãos de pólen germinados e não germinados. O número de grãos de pólen foi variável por lâmina.

Análise estatística

Devido ao caráter binomial dos dados (grãos de pólen germinados e não germinados), foi aplicado o teste X^2 (qui quadrado) de significância dos dois tratamentos para cada espécie, conforme o exemplo.

Ex.: Teste X^2 de significância de germinação de pólen de **E. smithii** para as duas coletas.

Quadro II

	n° pólen germinados (frequência esperada)	No de pólen não germinados (frequência esperada)	Total
Coleta direta (52,2%)	144 (190,80)	132 (85,20)	276
Coleta indireta (83,2%)	277 (230,20)	56 (102,80)	333
	421	188	609

X^2 calculado = 11,47 + 25,70 + 9,51 + 21,3 = 67,98 *** (significativo a 0,5%)

X^2 tabela 0,1% = 10,83

RESULTADOS E DISCUSSÕES

As porcentagens de germinação de pólen por tratamento e respectivos testes X^2 de significância das espécies são apresentados no Quadro III e ilustrados na Figura I.

Quadro III – Teste X^2 (qui quadrado) de significância de germinação de pólen para coleta direta e indireta de botão floral.

Espécie	Porcentagem de geminação		X^2
	T ₁ – Coleta direta	T ₂ – Coleta indireta	
E. grandis	41,5	42,1	1,1 n.s.
E. smithii	52,2	83,2	67,98***
E. dunnii	9,3	22,0	17,43***
E. brassiana	48,3	60,1	13,35***
E. urophylla	17,4	38,7	47,31***
E. camaldulensis	4,5	4,8	0,03 n.s.

Obs: n.s. – não significativo

*** - significativo a 0,1% de probabilidade

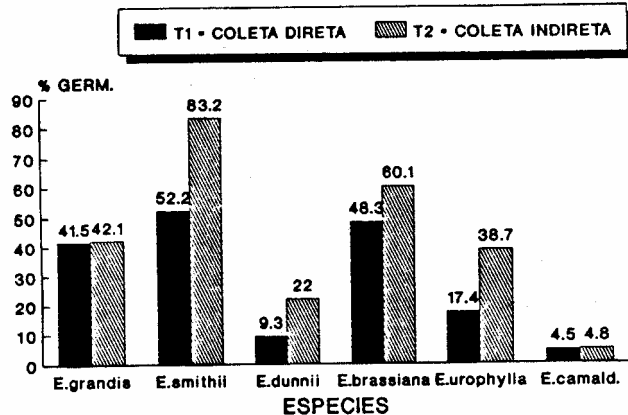


Figura 1 - Porcentagem de germinação de pólen por espécie e por tratamento.

Nota-se que a porcentagem de germinação do pólen foi extremamente variável para as diferentes espécies (de 4,5% para o **E. camaldulensis** a 83,2% para o **E. smithii**). Isto era de se esperar, pois não foi considerada a especificidade de condições para germinação de cada material estudado (meio de cultura, temperatura, etc.).

Verifica-se que em todas as espécies estudadas, a coleta indireta apresentou maior viabilidade do pólen do que a coleta direta. Para o **E. grandis** e o **E. camaldulensis** esta diferença não foi significativa e para as demais espécies foi significativa a 0,1 % de probabilidade pelo teste X^2 (qui quadrado).

Isto pode indicar que nas espécies que apresentaram o estágio de maturação do botão floral bem caracterizado fenotipicamente, pela coloração do opérculo, não houve diferença na viabilidade do pólen, tanto na extração direta como indireta.

Para as espécies em que este estágio de maturação não foi bem definido e apresentou longa duração (**E. dunnii** e **E. smithii**), este "amadurecimento artificial" foi de suma importância no incremento da viabilidade do pólen.

CONCLUSOES

Os resultados positivos do teste indicam que:

- O conhecimento do estágio adequado de coleta do botão floral é essencial quando se quer obter pólenes maduros com o máximo de viabilidade, para armazenar e possibilitar cruzamentos específicos;

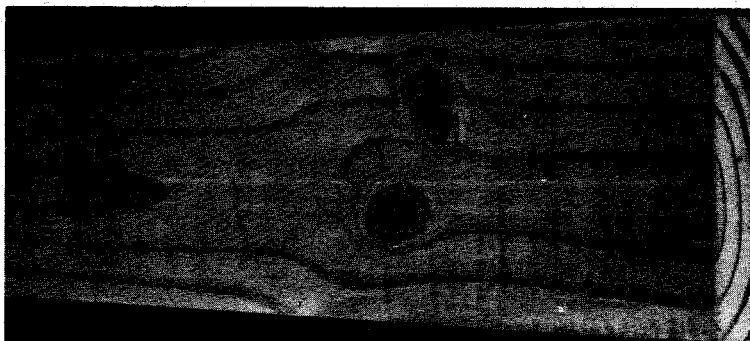
- A técnica de coleta de botões florais abertos em casa de vegetação evita contaminações e proporciona a coleta do pólen em estágio ideal (antese);

- Esta técnica é essencial para espécies que apresentaram o estágio de maturação não definido e de longa duração;

- Testes de viabilidade de pólen extraídos pelos dois métodos deverão ser conduzidos para detectar a influência do método de coleta em diferentes períodos de armazenamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSIS, T.F. de. - Hibridação na Aceso Florestal. In: SIMPÓSIO SOBRE TENDÊNCIAS DO DESENVOLVIMENTO FLORESTAL, Piracicaba, 1985 - **Trabalhos apresentados**. Piracicaba, IPEF, 1985. p.21-38.
- BODEN, R.W. - Handling and storage of pollen in **Eucalyptus** breeding. **Australian forestry**, Canberra, 12(2): 73-81, 1958.
- BORGES, C.P. et alii. - Estudos preliminares sobre a conservação do pólen de **Eucalyptus** spp. **IPEF**, Piracicaba (6): 3-32, 1973.
- CANGIANI, S.M.P. - Extração e armazenamento de pólen de **Eucalyptus camaldulensis**. **Circular técnica. IPEF**, Piracicaba (162): 1-5, set. 1988.
- CAUVIN, B. - **Eucalyptus** hybridation contrôlée. **Annales de recherches sylvicoles**, Paris (1983): 85-118, 1984.
- GRIFFIN, Q.R. & HAND, F.C. - Post anthesis development of flowers of **E. regnans** and the timing of artificial pollination. **Australian forestry research**, Melbourne 9: 9-15, 1979.
- GRIFFIN, A.R. et alii. - Processing **Eucalyptus** pollen for use in controlled pollination. **Silvae genetica**, Frankfurt, 31(5/6): 198-203, 1982.
- HODGSON, I.M. - Some aspects of flowering and reproductive behaviour in **Eucalyptus grandis**: part 1 - flowering, controlled pollination methods, pollination and receptivity. **South African forestry journal**, Pretoria (97): 18-28, 1976.
- PRYOR, I.D. - **Biology of Eucalyptus**. London, E. Arnold, 1976. 82p.
- SOUSA, V.A. de - Manejo e viabilidade do pólen de **Eucalyptus**. Piracicaba, 1988. 179p. (Tese-Mestrado-ESALQ).
- TIBBITS, W.N. - Controlled pollination studies with shining gum **Eucalyptus nitens**. **Forestry**, London, 62(2), 1989.
- VAN WYK, G. - Pollen management for eucalypts. In: USDA. FOREST SERVICE - Pollen management handbook. Washington, 1981. P.84-8.



REFLORESTAMENTO E TRATAMENTO DA MADEIRA

Com reflorestamento próprio, tecnologia desenvolvida a partir da seleção genética da semente de pinus até o produto final, as madeiras industrializadas pela Battistella Indústria e Comércio Ltda., obedecem o sistema canadense e americano de secagem em estufa a vapor com ventilação forçada. A eliminação de microorganismos é feita através da esterilização à alta temperatura com 130°C, por um período de 30 horas.

O processo de imunização em AUTOCLAVE, ou seja: A extração do ar das células da madeira e a consequente ocupação destes espaços com a injeção do líquido imunizante denominado CCA (à base de cromo, cobre e arsênico), além de ser atóxico, afasta qualquer possibilidade de ação de insetos xilófagos e fungos apodrecedores.

Vale salientar que a tecnologia aplicada é desenvolvida em seus Centros de Pesquisa e que o sistema de AUTOCLAVE, o qual imuniza 100% a madeira, é utilizado com exclusividade nos produtos da Battistella Indústria e Comércio Ltda., com fábricas em Lages, Rio Negrinho, Garuva em Santa Catarina e Palmeira no Paraná.



Battistella Ind. e Com. Ltda.

Empresa do Conglomerado Battistella

Av. Souza Naves, 1586 - Fone (041) 264-7221 - 262-1674
Telex: 41-6378 - Telefax: (041) 262-7973 - 80001 - CURITIBA - PR