

O IMPACTO DA TECNOLOGIA DA PROPAGAÇÃO CLONAL DO EUCALIPTO

Edgard Campinhos Jr.
Aracruz Florestal S. A.
Aracruz - ES

RESUMO

A clonagem de árvores florestais por enxertia tem sido usada em programas de melhoramento há muito tempo, visando a criação de pomares de sementes para a produção de sementes melhoradas geneticamente em quantidades comerciais; sendo também usada para a criação de bancos clonais. Entretanto, o recente desenvolvimento de técnicas para enraizamento de estacas, micropropagação e cultura de tecidos oferecem aumento da precisão de testes genéticos, rápida obtenção de ganhos genéticos de indivíduos selecionados, livres de doenças, produção em grande escala de material melhorado e a possibilidade de utilização da engenharia genética.

A Aracruz tem obtido ganhos consideráveis em volume de madeira, rendimento de polpa de celulose, resistência às doenças, eficiência dos trabalhos silviculturais e de exploração florestal através da escolha adequada de espécies de eucalipto (*Eucalyptus grandis*, *E. urophylla* e seus híbridos) e sua propagação clonal derivada de fenótipos selecionados e genótipos testados.

INTRODUÇÃO

O *Eucalyptus* spp. normalmente é propagado através de sementes, mas nos últimos 20 anos tem sido crescente a prática de sua propagação por enraizamento de estacas objetivando, basicamente, a multiplicação em grande escala de genótipos altamente produtivos.

A adoção desta alternativa foi em decorrência da falta de sementes melhoradas, do longo tempo que se faz necessário para o desenvolvimento de um programa de melhoramento e, sobretudo, pelas vantagens obtidas no uso da clonagem.

A Aracruz adaptou o método de clonagem desenvolvido no Congo para as suas condições ecológicas, selecionou árvores matrizes em seus plantios e de 1979 até agora já plantou 110 milhões de árvores propagadas utilizando essa tecnologia e, ao mesmo tempo, desenvolvendo o sistema clássico de melhoramento florestal.

Mais recentemente, iniciou estudos sobre propagação *in vitro*, com base nos desenvolvimentos realizados pela AFO-CEL - Association Forêt-Cellulose, na França.

PROPAGAÇÃO POR ENRAIZAMENTO DE ESTACAS

Para o estabelecimento de um sistema operacional de clonagem de eucalipto, por enraizamento de estacas, faz-se necessário o conhecimento das condições climáticas do local onde será instalado o viveiro, como a casa de vegetação que deve ser adequada ao clima região, além de outros fatores.

Definição dos Critérios e Seleção das Árvores Matrizes

Os critérios de seleção devem ser os mais abrangentes possíveis, porque com a clonagem pode-se compor uma floresta altamente homogênea, tanto em características fenotípicas quanto em genotípicas, podendo-se considerar:

- . volume da árvore em relação à idade;
- . resistência às doenças;
- . resistência aos insetos;
- . retidão do fuste;
- . habilidade de desrama;
- . tamanho dos galhos;
- . conteúdo de casca;
- . habilidade de rebrotamento;
- . habilidade de enraizamento;
- . propriedades da madeira: para polpa, carvão, etc.
- . propriedades da folha: teor de óleo, etc.
- . eficiência metabólica;
- . etc.

Teste Clonal

Nesta etapa testam-se os clones nos diversos "sites", para conhecer-se a interação "site" x clone. É um teste muito importante, pois só se conhece o comportamento efetivo do clone no local onde foi plantado originalmente.

Diferenças de condições físicas e químicas do solo podem influenciar no crescimento dos clones e nas propriedades da madeira.

Os melhores clones são, então, plantados nas áreas de multiplicação clonal.

Áreas de Multiplicação Clonal

Periodicamente e dentro de uma programação, as árvores são cortadas para fornecerem brotações, que são o material vegetativo utilizado para a produção de estacas.

O corte das árvores, dependendo da necessidade em se produzir propágulos, pode ser bem precoce (1,5 a 2,0 anos). O plantio pode ser adensado para melhor aproveitamento da área, que deve ter possibilidade de irrigação. Cuidados especiais devem ser dispensados: fertilização, capinas, podas, controle à erosão, etc., para ser bem produtiva. Nas condições de Aracruz colhem-se brotações com 55 dias, após o corte da árvore, deixando-se 1 brotação para garantir o próximo corte e uma nova produção de estacas.

Viveiro Clonal (para as condições de Aracruz)

a. Área para Preparo de Estacas

As brotações são trazidas da área de multiplicação clonal para o viveiro, dentro de recipientes com água. Os recipientes são distribuídos entre os trabalhadores para o preparo das estacas. As brotações, com aproximadamente 60 cm de comprimento, são divididas em estacas com um par de folhas. Corta-se a metade de cada folha para evitar excesso de transpiração e sobreposição. As estacas são tratadas com fungicida para evitar apodrecimento e a seguir são tratadas com ácido indol butírico diluído em talco e plantadas nos recipientes. Após o plantio, as estacas são colocadas em casa de vegetação.

b. Casa de Vegetação

A casa de vegetação é na realidade uma casa de sombra. É coberta com tela de polietileno que permite a passagem de 50% da luz solar e equipada com um sistema automático de irrigação por nebulização, mantendo as folhas permanentemente molhadas.

Após 25 dias na casa de sombra, as estacas já desenvolveram raízes e recebem fertilização.

c. Área para Crescimento das Estacas

Aos 35 dias, as estacas são transferidas para área aberta, onde recebem nova fertilização. Aos 45 dias são selecionadas em 3 tamanhos e permanecem nessa área até o crescimento adequado para o plantio definitivo, o que ocorre entre 75 e 95 dias. São novamente selecionadas no dia de serem en-

viadas para o plantio definitivo no campo.

CULTIVO *in vitro* (MICROPROPAGAÇÃO)

A dificuldade em se propagar determinadas espécies e ou genótipos levou muitos pesquisadores, nos últimos 15 anos, a desenvolver e adaptar técnicas de cultivo *in vitro*, como uma alternativa de multiplicação. Mesmo para espécies consideradas de fácil enraizamento por estaquia, os pesquisadores têm encontrado muitas dificuldades em definir uma metodologia adequada para o cultivo *in vitro*, no que diz respeito aos tipos de explantes a serem utilizados, meios de cultura, condições ambientais, etc.

Vários pesquisadores trabalhando com diferentes tipos de explantes, como hipocótilo, segmento de raiz, folha, antera, segmento nodal de mudas e de plantas adultas, concluíram que o fator limitante para o sucesso do cultivo *in vitro* é a idade das plantas. Plantas jovens ou rejuvenescidas são mais fáceis de serem cultivadas.

Assim, objetivando encontrar um explante adequado para a iniciação da cultura, várias pesquisas têm sido desenvolvidas para se obter um material rejuvenescido, como por exemplo a técnica de sucessivas enxertias, utilizada na França, a utilização de brotações de toco, etc.

Paralelamente, outras pesquisas estão sendo desenvolvidas, objetivando a viabilização do processo de micropropagação, com a adequação dos meios de crescimento, para multiplicação e enraizamento *in vitro*, bem como a aclimação dos explantes *in vivo*.

Na Aracruz a micropropagação vem sendo pesquisada desde 1984, visando:

- a) Propagar genótipos de difícil enraizamento pelo método de enraizamento de estacas.
- b) Produzir maior número de rametes em menor tempo.
- c) Obter informações básicas para pesquisas futuras em suspensão celular e fusão de protoplastos.

A metodologia de laboratório, empregada pela Aracruz, é basicamente a mesma descrita por Boulay (1984), diferindo no tipo de explante, na metodologia de desinfestação dos explantes e na concentração de ácido indol butírico no meio de enraizamento.

a. Obtenção dos Explantes

Os galhos de árvores adultas de *Eucalyptus* spp., com

aproximadamente 4 cm. de diâmetro e 70 cm. de comprimento, são levados para casa de vegetação, onde permanecem sob regime de irrigação intermitente.

Após 5 - 7 dias, observa-se entumescimento e início de desenvolvimento de brotações epicórnicas ao longo do galho.

Semanalmente aplica-se fungicida (Benlate) nos galhos e dois dias antes da coleta dos explantes aplica-se Benlate e Streptomicina, como medida preventiva contra microorganismos.

Com 15 a 20 dias essas brotações, com aproximadamente 3 cm, são cortadas e utilizadas como fontes de explantes.

b. Cultura Inicial

Em laboratório, 2 tipos de explantes são preparados e utilizados a partir das brotações epicórnicas:

- 1) Segmento nodal, com aproximadamente 5 mm.
- 2) Meristema com 4 primórdios foliares, com aproximadamente 0,5 mm.

Previamente os explantes são desinfestados em solução de hipoclorito de sódio.

c. Meio de Multiplicação

Os segmentos nodais são cultivados em meio Lepoivre para multiplicação, descrito por Boulay (1984), permanecendo durante 10 dias a uma temperatura de 25°C, em ambiente escuro para evitar oxidações fenólicas. Para os meristemas utiliza-se o mesmo meio, porém em ambiente com luz difusa.

Após esse período, os explantes são cultivados a uma temperatura de 25°C e a plena luz (24 horas de luminosidade - 40 watts/m²). A cada 25 dias é feito o sub-cultivo em meio Lepoivre.

Quando se utiliza meristema como explante, o índice de contaminação é praticamente nulo, enquanto que utilizando-se segmento nodal esse índice pode chegar a 40% de perda.

Nos primeiros 5 a 6 sub-cultivos, a taxa de multiplicação praticamente inexistente, porém nos sub-cultivos seguintes, a taxa pode atingir de 10 a 15 explantes/1.

d. Meio de Enraizamento

O meio de enraizamento utilizado (Knop), descrito por Boulay (1984), porém com alteração na concentração de ácido

indol butírico.

Normalmente os explantes são cultivados nesse meio por 7 dias, em ambiente escuro, e depois são sub-cultivados em meio Knop modificado, utilizando carvão ativo sem regulador de crescimento.

Após 25 dias os explantes enraizados são transplantados.

e. Aclimatação

Os explantes são transplantados para "tubetes" com vermiculita e mantidos sob regime de nebulização intermitente em casa de vegetação, por 7 dias.

Após esse período, os "plantlets" passam para outro regime de irrigação (3 a 4 vezes ao dia), na mesma casa de vegetação e, semanalmente, faz-se adubação foliar completa com macro e micronutrientes.

A partir do 35º dia, os "plantlets" recebem o mesmo tratamento das estacas enraizadas, quando saem da casa de vegetação.

CONCLUSÃO

Os ganhos promovidos pela clonagem são altamente significativos, tanto em volume de madeira produzida, quanto em qualidade.

O incremento médio anual da floresta passou de 30 para 45 m³sólidos/ha/ano; a seleção das árvores matrizes procurou uniformizar a densidade da madeira no intervalo de 470 a 580 kg/m³, com mais de 50% de rendimento de polpa de celulose (Tabela I).

Outros ganhos foram observados: maior sobrevivência, uniformidade em altura e diâmetro, menor necessidade de capinas, facilidade no controle às formigas cortadeiras, ausência de cancro, maior rendimento nas operações de corte e transporte de madeira, menor porcentagem de casca e rebrotamento próximo dos 100%.

A caracterização tecnológica das matrizes, com vistas à produção de polpa de celulose branqueada, é realizada pelo CPTEC (Centro de Pesquisas Tecnológicas da Aracruz Celulose) que, evidentemente, objetiva oferecer ao mercado o melhor produto e otimizar o processamento industrial.

Há, assim, uma perfeita sintonia entre as áreas florestal, industrial e comercial.

Florestas de alta produtividade e de curta rotação necessitam de um acompanhamento mais de perto sobre os aspectos nutricionais, especialmente tratando-se de florestas clonais.

O desenvolvimento de técnicas para enraizamento de estacas, micropropagação e cultura de tecidos tem sido rápido e estará disponível para ser usado com fins comerciais. Porém, o seu uso necessita de um planejamento cuidadoso, acompanhado de um programa estratégico de cruzamentos e seleções para promover contínuos ganhos genéticos e manter a variabilidade ge-nética, visando minimizar riscos.

BIBLIOGRAFIA

- BOULAY, M., 1983. Micropropagation des clones agés d'Eucalyptus sélectionnés pour leur resistance au froid. In: AFO - CEL. Colloque International sur les Eucalyptus résistants au froid. Paris, Association Forêt-Cellulose. p. 587-601.
- BOULAY, M., 1985. Aspects pratiques de la multiplication in vitro des essences forestières. In: AFOCEL. Annales des recherches sylvicoles. Paris, Association Forêt-Cellulose. p. 7-43.
- CAMPINHOS JR., E. & IKEMORI, Y. K., 1983. Production of vegetative propagules of Eucalyptus spp. by rooting of cuttings. In: UFV/MAB/IUFRO. Simpósio sobre Florestas Plantadas nos Neotrópicos como Fonte de Energia. Viçosa, 1983. p. 60-7.
- CAMPINHOS Jr., E., 1980. More wood of better quality: intensive silviculture with rapid growth improved Eucalyptus spp. for pulpwood. In. Annual Meeting of TAPPI. Atlanta, GA. p. 351-357.
- HARTNEY, V.J., 1980. Vegetative propagation of the eucalypts. Australian Forest Research, 10: 191-211.
- MARTIN, B. & QUILLET, G., 1974. Bouturage des arbres forestières au Congo; résultats des essais effectués à Pointe-Noire de 1969 a 1973. Bois et Forêts des Tropiques, n° 154: 42-57; n° 155: 15-33; n° 156: 39-61; n° 157: 21-40.
- ZOBEL, B. & TALBERT, J., 1984. Applied forest tree improvement. New York, J. Wiley. 505 p.

Trabalho apresentado no workshop "Resultados e Perspectivas da Biotecnologia Florestal no Brasil", realizado no Instituto de Estudos Avançados da USP, em 19 de junho de 1989.

Tabela I - Comparação da Qualidade da Madeira dos Eucaliptos, de Diferentes Fontes, Plantados em Aracruz

	Brasil Comercial	Zimbabwe e África do Sul Comercial	Estacas Enraizadas			
			1º Estágio	Ganho (%)	2º Estágio	Ganho (%)
Densidade Básica (kg/m³)	480	490	490	2,1	520	8,3
Rendimento de Polpa (%)	47	47,4	49	4,3	51,8	10,2
Conteúdo de Casca (%)	18	15	12	33,3	10	44,4
Consumo Específico de Madeira (m³/t ₉₀ cel.)	4,87	4,56	4,26	12,5	3,71	23,8