

## 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 Streptomomicina, 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/m<sup>2</sup>). 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. Aclimação

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 m<sup>3</sup>sólidos/ha/ano; a seleção das árvores matrizes procurou uniformizar a densidade da madeira no intervalo de 470 a 580 kg/m<sup>3</sup>, 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 <sub>90</sub> cel.)	4,87	4,56	4,26	12,5	3,71	23,8