

# Boletim

## TÉCNICO SIF

Número 04 - Volume 01  
Junho 2021

*Aceleração do florescimento em genótipos autofecundados e florescimento ultra-precoce de mudas jovens de Eucalyptus por top graftings*

*Carla Aparecida de Oliveira Castro et al.*

## ACELERAÇÃO DO FLORESCIMENTO EM GENÓTIPOS AUTOFECONDADOS E FLORESCIMENTO ULTRA-PRÉCOCE DE MUDAS JOVENS DE *Eucalyptus* POR TOP GRAFTINGS

Carla Aparecida de Oliveira Castro<sup>2\*</sup>, Genaina Aparecida de Souza<sup>3</sup>, Gleison Augusto dos Santos<sup>4</sup>, Marcos Deon Vilela de Resende<sup>5</sup>, Elizabete Keiko Takahashi<sup>6</sup> e Fernando Palha Leite<sup>6</sup>

<sup>2</sup> South Carolina Forestry Commission, Niederhof, Forestry Center, Tilman, SC - United States. E-mail: <ccastro@scfc.gov>.

<sup>3</sup> Universidade Federal de Viçosa, Doutora em Fisiologia Vegetal, Viçosa, MG - Brasil. E-mail: <genainasouza@yahoo.com.br>

<sup>4</sup> Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Engenharia Florestal, Viçosa, MG - Brasil. E-mail: <gleison@ufv.br>.

<sup>5</sup> Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Viçosa, MG - Brasil. E-mail: <marcos.deon@gmail.com>.

<sup>6</sup> Cenibra, Perpétuo Socorro, MG - Brasil. E-mail: <elizabete.takahashi@cenibra.com.br> e <fernando.leite@cenibra.com.br>.

\*Corresponding author.

*RESUMO* – Processos inovadores de aceleração do florescimento de espécies de *Eucalyptus* por **top graftings** (enxertias de topo), incluem a possibilidade de redução do tempo dos ciclos no melhoramento florestal. Esta permite a produção de linhagens florestais e torna o uso da Seleção Genômica Ampla operacional. O objetivo foi estabelecer metodologias para a realização de **top graftings** em genótipos autofecundados e de mudas juvenis, de *Eucalyptus*, visando a indução precoce de florescimento. As avaliações dos **top graftings** foram realizadas a cada 3 meses após as enxertias, quanto à sobrevivência, em variáveis de crescimento e florescimento. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o REML/BLUP e o teste Scott-Knott. Desta forma, foram determinados os efeitos dos tratamentos sobre as variáveis avaliadas. Constatamos que a predisposição dos **top graftings** à enxertia varia de acordo com o material genético utilizado. A quantidade de botões florais e frutos produzidos pelos **top graftings** foi satisfatória para atestar sobre a eficiência da metodologia. As últimas avaliações realizadas demonstraram a capacidade de **top graftings** produzirem mais de 4 mil botões florais em um único enxerto. O florescimento permitiu que os polens fossem coletados, para serem utilizados em cruzamentos ou avanço de autofecundação nessas plantas S1 pela CENIBRA. Levando em consideração o desempenho dos enxertos para florescimento, a melhor época para realização de **top graftings** varia de acordo com a sua finalidade, sendo que para a enxertia de genótipos autofecundados, o ideal é a época de 3 meses antes do florescimento. Já para a enxertia de mudas jovens, os **top graftings** de 6 meses antes apresentam melhores resultados para florescimento e crescimento de área de copa. Considerando as duas épocas de enxertia, a aplicação de paclobutrazol favorece o florescimento ainda mais precoce dos **top graftings**. Concluímos por fim, que a técnica é viável para *Eucalyptus* e pode ser replicada para as espécies do gênero, seguindo os procedimentos recomendados.

*Palavras-Chave:* Melhoramento florestal. Linhagens. Seleção Genômica Ampla.



## 1. INTRODUÇÃO

A importância do gênero *Eucalyptus*, principalmente das espécies *E. urophylla*, *E. grandis* e de seus híbridos, aumentou de forma considerável desde a sua introdução no país. A boa adaptação é justificável devido às semelhanças de condições climáticas e de latitude entre os locais de plantio e os centros de origem das espécies de *Eucalyptus* na Austrália (Flores et al., 2016). Isto acarretou o interesse das empresas florestais por estes materiais genéticos e por investir em pesquisas, objetivando o aprimoramento do melhoramento, assim como das técnicas de propagação e da biotecnologia (Castro et al., 2016).

A realização de cruzamentos estratégicos entre genitores superiores de *Eucalyptus* é uma etapa fundamental nos programas de melhoramento e deve ser planejada criteriosamente. As espécies de *Eucalyptus* foram inicialmente recombinadas entre si no Brasil em meados de 1970, visando a formação de híbridos com maior produção de madeira e tolerância a doenças (Assis, 2005). A técnica de hibridação evoluiu de forma considerável durante o tempo, até o surgimento da Protoginia Artificialmente Induzida, que aumentou a efetividade dos cruzamentos (Assis et al., 2005).

Além disso, a implementação de testes de progênies como método de avaliação dos genitores e de seleção dos melhores indivíduos oriundos destas recombinações também vem sendo comumente empregada no melhoramento (Castro et al., 2016). A realização de recombinações para a obtenção de botões florais, flores e frutos, é necessária para a formação de sementes melhoradas de *Eucalyptus* e promover o avanço de gerações. Entretanto, os indivíduos arbóreos de interesse normalmente necessitam de 1 a 12 anos para crescerem e adquirirem maturidade fisiológica para florescerem naturalmente (Jordan et al., 2000; Golle et al., 2009). Visando contornar o problema, são utilizados pomares de hibridação, em que plantas do gênero são cultivadas em vasos e têm seu florescimento induzido de forma precoce (Golle et al., 2009).

Outra maneira de garantir a obtenção de floração precoce é conhecida como propagação vegetativa. Espécies agronômicas, frutíferas, ou mesmo, florestais dos gêneros *Pinus* e *Araucaria*, já demonstraram ser aptas aos procedimentos de enxertia convencional

ou *top grafting*, sendo que a segunda se baseia na realização de enxertia no topo de árvores adultas (Floriano, 2004; Gaspar, 2017; Pérez-Luna et al., 2019). A vantagem do uso dos *top graftings* para indução do florescimento, é o fato de esta utilizar matrizes que estejam florescendo para serem porta-enxertos (Almqvist, 2013). Isso acelera ainda mais a obtenção do resultado desejado.

A inclusão dos *top graftings* de *Eucalyptus* no melhoramento oferece novas possibilidades, como a criação de linhagens puras e o uso operacional da Seleção Genômica Ampla (SGA). Contudo, atualmente ainda não existe um processo que torne esta técnica usual para o gênero e que seja utilizada em grande escala pelas empresas florestais e centros de pesquisas. Assim, o objetivo foi estabelecer e avaliar novas metodologias de *top graftings*, que tornem o seu uso factível, visando o florescimento precoce de espécies de eucalipto para estas finalidades.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

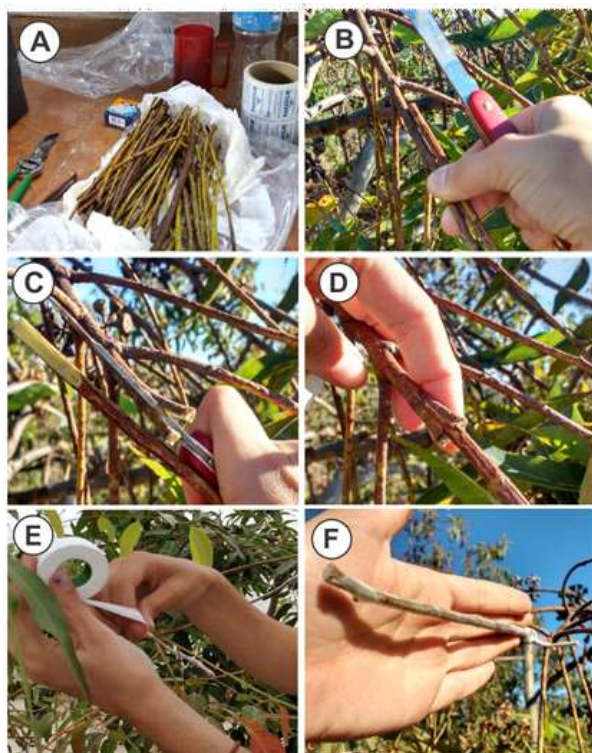
Os *top graftings* foram realizados em duas épocas (materiais autofecundados: julho a novembro e mudas jovens de julho a outubro). Foram testados os genótipos e espécies: (*E. urophylla*, *E. grandis* e híbrido entre *E. urophylla* x *E. grandis*), com e sem aplicação de paclobutrazol (PBZ). Foram realizadas avaliações periódicas a cada três meses, nas quais foram contabilizadas as porcentagens finais de pegamento dos enxertos e a quantidade, entre os que permaneceram vivos, que apresentaram florescimento. Além disso, o tempo de início do ciclo de florescimento e a quantidade de botões florais que os enxertos produziram. O delineamento experimental utilizado para testar o uso dos processos para autofecundados e mudas jovens sofreu pequenas variações entre si, conforme citado abaixo:

### 2.1. Florescimento de materiais autofecundados

Todas as autofecundações ciclo um em genótipos de interesse foram realizadas e confirmados por genotipagem microssatélites pela CENIBRA para a estratégia de semiendogâmica do Programa de Melhoramento da empresa. O uso do processo por meio de *top grafting* surgiu como alternativa para acelerar a obtenção de flores e frutos e possibilitar que sucessivos ciclos de autofecundação sejam realizados em menor tempo. A população autofecundada foi

plantada no campo e após 3 a 5 anos os indivíduos foram avaliados e selecionados os que apresentaram melhor desempenho e genotipados para confirmação de autofecundação. Os indivíduos confirmados foram selecionados para a realização do trabalho (Figura 1-A). Os porta-enxertos selecionados foram preferencialmente aqueles que geraram os genótipos selecionados por autofecundação (parental materno). O delineamento utilizado foi em blocos casualizados, com 4 blocos x 4 repetições x 2 tratamentos (com e sem aplicação de paclobutrazol) = 32 enxertos por genótipo. A unidade experimental foi constituída por 8 genótipos e 16 plantas = 224 enxertos realizados em cada período (3 e 6 meses antes do florescimento). Os processos utilizando *top graftings* foram realizados com a enxertia tipo garfagem em fenda cheia, seguindo a metodologia adaptada (Figura 1).

Após seleção das matrizes para porta-enxertos, galhos com ramos de mesma circunferência dos enxertos foram encontrados (Figura 1-B). Após a escolha do ramo, efetuou-se a enxertia (Figura 1-D). Em seguida, foi preciso cuidar para que pelo menos um dos lados da casca do enxerto, coincidissem com



**Figura 1** – Metodologia de realização dos processos visando a formação de linhagens, utilizando-se o *top grafting* de materiais genéticos autofecundados.

a borda do porta-enxerto (Figura 1-C). Após este procedimento, revestiu-se o material enxertado com o parafilme (Figura 1-E). O local em que houve a conexão entre enxerto e porta-enxerto foi pressionado com um fitilho (Figura 1-F). Após, um dos porta-enxertos foi selecionado para que o PBZ fosse aplicado sobre a sua área radicular (Figura 2). O PBZ é um regulador de crescimento que proporciona diversas alterações fisiológicas nas plantas.

## 2.2. Florescimento ultra-precoce de progênes e clones (mudas jovens)

Neste tipo de *top grafting* foram utilizadas mudas seminais advindas de cruzamentos estratégicos, que estivessem sendo propagadas em viveiro. Foram testadas duas diferentes idades (60-90 dias e 150-180 dias), de mudas para a realização dos *top graftings*. Neste sentido, a metodologia foi aplicada com mudas de 60-90 dias, conforme citado, sendo este um modelo de muda mais tenro (Figura 3-A). Portanto, foi preciso retirar com cuidado todas as folhas de cada muda e realizar apenas um corte em sua base, rente ao substrato. Enquanto que optando-se por utilizar mudas de 150-180 dias foi necessário perceber, a partir do ápice da muda, o ponto em que ela passa a ter o caule mais rígido (ponto superior de corte do enxerto). Desta forma, a base do enxerto tornou-se apta à realização da cunha. Além disso, foram



**Figura 2** – Demonstração da metodologia de aplicação do indutor de florescimento sob os porta-enxertos.





**Figura 3** – Metodologia de realização dos processos para seleção ultra-precoce de genótipos a partir do uso de top graftings, utilizando-se mudas jovens.

medidos aproximadamente 20 cm, para determinar o ponto inferior de corte do enxerto (Figura 3-B).

A partir desta etapa, o procedimento de enxertia seguiu os mesmos passos descritos anteriormente para os top graftings realizados para os materiais autofecundados. Entretanto, para o uso de mudas jovens como enxertos, o delineamento deu-se em blocos casualizados, com 4 blocos x 4 repetições x 2 tratamentos (com e sem aplicação de paclobutrazol) x 2 idades (mudas de 60-90 dias e 150-180 dias) = 64 enxertos por cruzamento. A unidade experimental foi constituída por 3 cruzamentos e 6 plantas = 192 enxertos realizados em cada período (3 e 6 meses antes do florescimento). Devido ao material vegetal utilizado ser semi-lenhoso e frágil, o top grafting foi realizado utilizando-se canivete próprio para enxertia e tesoura de poda, para o corte dos galhos. A afiação do material adequada foi necessária para que fossem realizados cortes uniformes e a correta união entre as partes fosse assegurada. A região de enxertia, assim como todo o ramete, foi recoberta com fita biodegradável (parafilme), para que fosse evitada a desidratação dos tecidos e morte prematura do enxerto. Além disso, foi reforçada a união com fita veda-rosca ou fitilho de plástico resistente.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Florescimento de materiais autofecundados

Os enxertos vivos de autofecundados apresentaram bom desenvolvimento, sendo que alguns destes, chegaram a ter até 6 m<sup>2</sup> de área de

copa. O paclobutrazol favoreceu a indução do florescimento. Os processos realizados apresentaram bons índices de sobrevivência, permitindo a condução do material até que houvesse florescimento (Figura 4). O uso dos processos se mostrou viável para ser utilizado visando a geração de linhagens puras. Levando em consideração a indução de florescimento, sobrevivência e desenvolvimento da área de copa nos top graftings realizados, melhores resultados foram obtidos para materiais com 3 meses. A aplicação de paclobutrazol favoreceu o florescimento dos top graftings. Entretanto, a aplicação do PBZ não afetou a taxa de sobrevivência e o desenvolvimento de área de copa dos enxertos.

#### 3.2. Florescimento ultra-precoce de progênies e clones (mudas jovens)

Os enxertos de mudas jovens iniciaram a produção de primórdios florais de forma ultra-precoce (3 meses após a enxertia) com excelente produção de botões florais (Figura 5). Desta forma, o uso dos top graftings se mostrou viável para ser utilizado visando o florescimento ultra-precoce de progênies de *Eucalyptus*, inseridas em programas de Seleção Genômica Ampla (SGA). Operacionalmente, recomenda-se que o top grafting seja realizado com mudas de 60 a 180 dias. Além disso, que seja utilizado como porta-enxerto, uma matriz que tenha afinidade genética com o ramete.

Em relação à sobrevivência dos top graftings, melhores resultados foram obtidos para a época de 3 meses antes do florescimento. Entretanto, foi definida



**Figura 4** – A- Demonstração do florescimento em alguns dos top graftings realizados; B- Manutenção satisfatória dos frutos com o decorrer do tempo, C- Frutos maduros. As setas indica, o florescimento e os botões florais.



**Figura 5** – A - Emissão de primórdios florais, 3 meses após as enxertias; B - Demonstração de *top graftings* de mudas jovens que apresentaram florescimento, C - *top graftings* frutificando.

como a melhor para realização do *top grafting*, a época de 6 meses, que produziu maior quantidade de botões florais e frutos. A aplicação de PBZ favoreceu o florescimento dos *top graftings* vivos.

#### 4. CONCLUSÕES

Constatamos que a técnica de *top graftings* é viável para *Eucalyptus* e pode ser replicada para as espécies do gênero, seguindo os procedimentos recomendados neste boletim. Além disso, a aplicação de paclobutrazol favorece o florescimento dos *top graftings*.

A quantidade de botões florais e frutos produzida pelos *top graftings* é satisfatória. Este material disponibilizado permitiu que pólenes fossem utilizados em cruzamentos estratégicos para o programa de melhoramento da CENIBRA. Ao final do ciclo frutos e sementes foram colhidos em quantidade normal para o gênero permitindo a rápida instalação de testes de progênies.

A aceleração do florescimento por meio do uso de *top graftings* permitirá a diminuição de tempo na formação de linhagens endogâmicas de *Eucalyptus* e em consequência, garantirá o melhor aproveitamento da heterose no melhoramento genético da espécie, semelhando-se ao que vem sendo feito na cultura do milho, por exemplo. Além disso, permitirá a efetivação do uso de Seleção Genômica Ampla (SGA) no melhoramento genético do gênero e em consequência, garantirá a redução do tempo necessário

para o avanço de gerações e recomendações de novos clones comerciais. A junção da seleção precoce para volume e qualidade da madeira a partir da SGA em materiais genéticos selecionados ainda na fase de muda (em viveiro) e o posterior florescimento ultraprecoce das mudas jovens (via *top grafting*), poderá reduzir o tempo entre os ciclos de melhoramento de *Eucalyptus*.

#### 5. AGRADECIMENTOS

CENIBRA, SIF, CNPq, Capes e UFV.

#### 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almqvist, C., 2013. Interstock effects on topgraft vitality and strobili production after topgrafting in *Pinus sylvestris*. Canadian journal of forest research, 43(6), 584- 588.
- Assis, T.F., Warburton, P., Harwood, C., 2005. Artificially induced protogyny: an advance in the controlled pollination of *Eucalyptus*. Australian Forestry, 68(1), 27- 33.
- Castro, C.A.O., Resende, R.T., Bhering, L.L., Cruz, C.D., 2016. Brief history of *Eucalyptus* breeding in Brazil under perspective of biometric advances. Ciência Rural, v 46(9), p.1585–1593.
- Floriano, E.P., 2004. Produção de mudas clonais por via assexuada. Santa Rosa: [S.n.], 37 p. (Série cadernos didáticos, 3).
- Gaspar, R.G.B., Wendling, I., Stuepp, C.A., Angelo, A.C., 2017. Rootstock age and growth habit influence top grafting in *Araucaria angustifolia*. Cerne, 23(4), 465- 471.
- Golle, D.P., Reiniger, L.R.S., Curti, A.R., Bevilacqua, C.B., 2009. Melhoramento florestal: ênfase na aplicação da biotecnologia. Ciência rural, 39(5), 1607-1614.
- IBÁ- Indústria Brasileira de Árvores, 2020. Relatório Anual Ibá 2020. São Paulo: Café Art. Available in: <https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorio-iba-2020.pdf>. Access: 10 jan. 2021.
- Jordan, G.J., Potts, B.M., Chalmers, P., Wiltshire, R.J., 2000. Quantitative genetic evidence that the timing of vegetative phase change in *Eucalyptus*

*globulus* ssp. *globulus* is an adaptive trait. Australian Journal of Botany, 48(5), 561-567.

Pérez-Luna, A., Prieto-Ruíz, J.Á., López-Upton, J.,

Carrillo-Parra, A., Wehenkel, C., Chávez-Simental, J.A., Hernández-Díaz, J.C., 2019. Some factors involved in the success of side veneer grafting of *Pinus engelmannii* Carr. Forests, 10(2), 112