

CAMILA DA SILVA FREITAS

**OBTENÇÃO DE PORTA-ENXERTOS MADUROS PARA INDUÇÃO DO
FLORESCIMENTO PRECOCE EM PLANTAS JUVENIS DE *Eucalyptus* spp.**

Monografia apresentada ao Departamento
de Engenharia Florestal da Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do curso de Engenharia Florestal

VIÇOSA
MINAS GERAIS-BRASIL
AGOSTO-2013

CAMILA DA SILVA FREITAS

**OBTENÇÃO DE PORTA-ENXERTOS MADUROS PARA INDUÇÃO DO
FLORESCIMENTO PRECOCE EM PLANTAS JUVENIS DE *Eucalyptus* spp.**

Monografia apresentada ao Departamento
de Engenharia Florestal da Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do curso de Engenharia Florestal

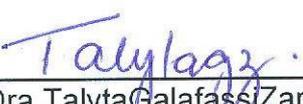
APROVADA: 02 de Setembro de 2013



Prof. Acelino Couto Alfenas
(ORIENTADOR)



Dr. Rafael Ferreira Alfenas



Dra. Talyta Galafassi Zarpelon

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me conceder a vida e a oportunidade de chegar até aqui.

Aos meus pais e ao meu irmão, pelo amor incondicional, incentivo, oportunidades e por sempre acreditarem em mim.

Aos meus familiares pela torcida e aconchego.

Ao Professor Acelino pela orientação, pelos ensinamentos, pela amizade, pelos conselhos, e pelas oportunidades desde a iniciação científica.

À Klabin S/A pela confiança, oportunidade de realizar o estágio, pela estrutura e pelas condições oferecidas para realização do trabalho.

À Regiane pela orientação na empresa, amizade, pelos ensinamentos e pela dedicação na realização das atividades.

Ao Teotônio por toda colaboração, pelas sugestões, conversas e informações.

Ao Valdir Moura pela disponibilidade e grande ajuda na implantação e avaliação dos experimentos, pelas conversas e trocas de saberes.

A todos os funcionários do Viveiro de Pesquisas Florestais da Klabin, pelo auxílio e colaboração na implantação do trabalho, pela paciência, pelo empenho e pela qualidade nas operações realizadas.

À CTGMF pela disponibilidade de informações.

Aos amigos da UFV, do Laboratório de Patologia Florestal e da Clonar, pelas conversas e pelo apoio.

À Talyta pela amizade, disponibilidade, pelas dicas e conselhos.

Ao Tiago por todo amor, carinho, incentivo e por sempre estar ao meu lado, você foi fundamental.

BIOGRAFIA

Camila da Silva Freitas filha de Ely de Paula Freitas e Consolação de Fátima Silva Freitas, nasceu em 9 de maio de 1990, em Viçosa, Minas Gerais.

Em 2007, concluiu o 2º grau na Escola Estadual Doutor Raimundo Alves Torres, em Viçosa.

Em 2008, iniciou o curso de Engenharia Florestal, na Universidade Federal de Viçosa, sendo o mesmo concluído em setembro de 2013. No período de 2008 a 2013 foi bolsista de Iniciação Científica no Laboratório de Patologia Florestal do DFP/Bioagro e da Clonar Resistência a Doenças Florestais sob a orientação do Prof. Acelino Couto Alfenas.

SUMÁRIO

EXTRATO.....	viii
1-INTRODUÇÃO	10
2-REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 Importância e histórico do Melhoramento Genético do Eucalipto no Brasil	13
2.2 SELEÇÃO PRECOCE	14
2.3 INDUÇÃO DO FLORESCIMENTO PRECOCE.....	15
2.4 SELEÇÃO GENÔMICA AMPLA.....	15
2.5 ENXERTIA	18
2.6 PACLOBUTRAZOL NA INDUÇÃO DO FLORESCIMENTO PRECOCE	19
2.7 TÉCNICAS PARA OBTENÇÃO DE PORTA-ENXERTOS MADUROS E INDUÇÃO DO FLORESCIMENTO PRECOCE.....	20
2.7.1 <i>Top grafting (Eucalyptus)</i>	20
2.7.2 Enxertia de propágulos juvenis em raízes de plantas maduras de Eucalyptus	21
2.7.3 Substituição de copa em dupla enxertia	22
2.7.4 Dupla enxertia associada à enxertia de raízes	22
2.7.5 Desenvolver porta-enxertos maduros por alporquia	22
2.7.6 Utilização de clones de florescimento precoce como porta-enxertos	23

2.7.7 Enxertia em porta-enxertos maduros obtidos por enraizamento de ápices de plantas maduras.....	24
3-OBJETIVO.....	25
4-MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4.1 Tipos de enxertia empregados.....	26
4.1.1 Garfagem em Fenda	26
4.1.2 Garfagem em Fenda Incrustada	26
4.1.3 Garfagem em Fenda Lateral.....	27
4.1.4 Enxertia Sob Casca Fendilhada em “T” Normal	27
4.2 Métodos para obtenção de porta-enxertos maduros	28
4.2.1 Top Grafting	28
4.2.2 Enxertia de propágulos juvenis em raízes de plantas maduras de <i>Eucalyptus</i>	30
4.2.3 Substituição de copa em dupla enxertia	32
4.2.4 Dupla enxertia associada à enxertia de raízes	33
4.2.5 Porta-enxertos maduros por alporquia.....	35
4.2.6 Clones de florescimento precoce como porta-enxertos	37
4.2.7 Enxertia em porta-enxertos maduros obtidos por enraizamento de ápices de plantas maduras	38
5-RESULTADOS	39
6-DISSCUSSÃO	47
7. CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

EXTRATO

FREITAS, Camila da Silva. Monografia de graduação. Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2013. **Obtenção de porta-enxertos maduros para indução do florescimento precoce em plantas juvenis de *Eucalyptus* spp.** Orientador: Acelino Couto Alfenas. Co-orientadores: Regiane Abjaud Estopa e Teotônio Francisco de Assis.

O presente estudo teve como objetivo definir técnicas para obtenção de porta-enxertos maduros de *Eucalyptus* spp, a fim de promover a indução do florescimento precoce em plantas juvenis de espécies e híbridos de eucalipto, tendo em vista a viabilização operacional da seleção genômica ampla e também a criação de alternativas ao uso do paclobutrazol. Para isso foram testados sete métodos, sendo eles o *Top grafting*, Enxertia de propágulos juvenis em raízes de plantas maduras de Eucalyptus, Substituição de copa em dupla enxertia, Dupla enxertia associada à enxertia de raízes, Desenvolver porta-enxertos maduros por alporquia, Utilização de clones de florescimento precoce como porta-enxertos, Enxertia em porta-enxertos maduros obtidos por enraizamento de ápices de plantas maduras. Dos sete métodos testados, o *Top grafting* foi que apresentou maior porcentagem de pegamento, chegando a 80% em um dos materiais usados como porta-enxerto. Embora com menor pegamento, a Utilização de clones de florescimento precoce como porta-

enxertos também se destacou, chegando a 60% de pegamento dos enxertos em um dos materiais avaliados. Se constatado o florescimento precoce nos materiais enxertados nestes dois métodos, estes serão alternativas eficientes para indução do florescimento precoce em *Eucalyptus* spp., e portanto auxiliar nos programas de melhoramento genético e viabilizar a Seleção Genômica Ampla. Embora as demais técnicas não tenham apresentado sucesso, foram feitas observações importantes sobre as mesmas. Portanto, tais observações e constatações podem servir de guia para a reavaliação das técnicas em trabalhos futuros.

1-INTRODUÇÃO

A velocidade de obtenção de ganhos no melhoramento de espécies perenes depende do tempo que as plantas levam para atingir o estágio reprodutivo, disponibilizando flores para cumprir a etapa de recombinação. Algumas espécies de *Eucalyptus* são muito tardias em relação a esse aspecto, limitando muito a eficácia dos programas de melhoramento e atrasando a incorporação de ganhos genéticos ao processo produtivo.

O florescimento precoce é desta forma, importante ferramenta dentro dos programas de melhoramento genético de espécies deste gênero. A maioria dos métodos combina a enxertia com a aplicação de Paclobutrazol[®] que é um indutor de florescimento. O produto não é registrado para espécies de *eucalyptus* no Brasil, e frequentemente seu uso não oficial é questionado pelas equipes internas de certificação. Dessa forma, o desenvolvimento de métodos alternativos de indução do florescimento precoce e legalmente aceitos, é fundamental para que a agilidade dos programas de melhoramento atuais não venha a ser comprometida.

Por outro lado, a estratégia de Seleção Genômica Ampla (SGA), atualmente em desenvolvimento para eucalipto, consiste na análise de um grande número de marcadores amplamente distribuídos no genoma. Após a

obtenção destes marcadores, seus efeitos são estimados baseados em dados fenotípicos de uma população conhecida usada para estimação. Uma vez que seus efeitos são modelados e estimados, estes são testados em uma população de validação e, então, selecionam-se os marcadores que explicam parte da variância genética do caráter em estudo para que sua informação seja efetivamente incorporada à etapa de seleção do Programa de Melhoramento (Meuwissen et al. ,2001).

A técnica possui um grande potencial e demanda, entretanto para sua maior eficiência, é fundamental a indução do florescimento precoce em propágulos juvenis. Desse modo, há necessidade de se desenvolver protocolos capazes de induzir o florescimento de propágulos juvenis, bem como para substituir o uso do paclobutrazol. Neste sentido, se propõe uma série de métodos a serem desenvolvidos para obter a indução do florescimento em propágulos juvenis com base na fisiologia de plantas de eucalipto.

Os estímulos para se atingir a maturidade fisiológica e a juvenilidade são translocáveis na enxertia. Por exemplo, na enxertia tradicional enxertos de propágulos maduros em porta-enxertos juvenis recebem, pelo menos temporariamente, estímulos de juvenilidade dos porta-enxertos. Assim o uso de porta-enxertos juvenis de forma seriada ou em cascata é capaz de promover o rejuvenescimento de tecidos maduros. Por outro lado, enxertos de propágulos juvenis, feitos em plantas fisiologicamente maduras, são estimulados a florescer precocemente como na técnica de *top grafting* observado em *Pinus* e *Eucalyptus* (Assis, T.F, 2012).

Esses estímulos podem vir das raízes (ex. *top grafting* sobre plantas podadas drasticamente), induzindo a precocidade de florescimento, ou enxertia em cascata promovendo o rejuvenescimento. Mas também podem se originar da própria copa, desde que esteja em estágio reprodutivo, por exemplo enxertos de propágulos maduros sobre porta-enxertos juvenis inicialmente apresentam um “flash” inicial de juvenilidade e depois assumem e preservam sua característica fisiológica e morfológica adulta. Isso é explicado pelo número de divisões celulares dos meristemas das plantas, radicular e, ou apical.

Todos os métodos a serem testados neste trabalho baseiam-se na enxertia dos propágulos juvenis sobre porta-enxertos fisiologicamente maduros e que estejam em florescimento. Portanto, a maioria das ideias é relativa às distintas formas de obtenção de porta-enxertos maduros.

2-REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância e Histórico do Melhoramento Genético do Eucalipto no Brasil

A cultura do eucalipto é de grande importância econômica, ambiental e social para o Brasil. Há atualmente mais de cinco milhões de hectares plantados (ABRAF, 2013) para suprir a demanda de madeira para celulose e carvão, principalmente, mas também para serraria, painéis reconstruídos, compensados, postes, mourões de cercas, construção civil e dormentes, entre outras. Além de constituir importante fonte de divisas para o país, contribui para a conservação ambiental e de espécies nativas, pois minimiza a pressão extrativista sobre as florestas autóctones.

O eucalipto foi introduzido comercialmente no país no início do século XX, e ao longo dos anos diferentes espécies e procedências tem sido selecionadas por meio do melhoramento genético clássico para diversas características de interesse. No período de 1960 a 1980 foram realizados testes de espécies e procedências. Subsequentemente intensificaram-se os testes de progênie e os programas de seleção recorrente intrapopulacional (SRI) (ASSIS, 1980; KAGEYAMA, 1980; KAGEYAMA e VENCOVSKY, 1983). A partir de 1990, programas intensivos de hibridação foram implementados, e,

em 2000, iniciaram-se os programas de Seleção Recorrente Recíproca (SRR) para o melhoramento do híbrido entre espécies divergentes. No processo de melhoramento, houve também transição dos plantios seminais para plantios clonais. O grande sucesso dos plantios clonais retardou, em parte, a evolução do melhoramento genético, mas atualmente os programas de melhoramento constituem prioridade no setor florestal, a fim de se obterem genótipos superiores principalmente para clonagem, mas também para o plantio por semente (FONSECA et. al., 2010).

2.2 Seleção Precoce

Numa primeira etapa, os programas de melhoramento genético baseiam-se na avaliação e seleção de genótipos superiores de espécies puras, visando, posteriormente, utilizá-los para recombinação e, ou, para hibridação. Subsequentemente, testes de progênies de espécies puras e, ou, híbridas são instalados, visando dar continuidade ao melhoramento das espécies puras e, ou à obtenção de híbridos superiores para utilização nos plantios comerciais. Geralmente, as avaliações silviculturais e tecnológicas da madeira desses materiais são efetuadas nas idades estabelecidas como ideais para corte, seis a sete anos, no caso de utilização da madeira para carvão e, ou, celulose, por exemplo. Esse fato, aliado ao tempo requerido para avaliação, clonagem por estaquia ou enxertia e florescimento das árvores para novos cruzamentos, faz que o tempo decorrido do cruzamento até a obtenção de clones híbridos para plantio seja, pelo menos, de 14 anos e para a obtenção de novas sementes híbridas de cruzamentos recombinados de, no mínimo, 21 anos (FONSECA et al., 2010).

A seleção precoce visa reduzir esses prazos para oito anos no caso de obtenção de híbridos e para 12 anos no caso de obtenção de novas sementes híbridas, avaliando-se então as árvores a partir dos dois anos de idade em vez de seis anos (FONSECA et al., 2010).

2.3 Indução do Florescimento Precoce

O tempo relativamente longo para atingir o estágio reprodutivo é um dos principais fatores que reduzem a agilidade dos programas de melhoramento de espécies florestais arbóreas. Este fator torna-se ainda mais importante na medida em que estudos recentes demonstram a eficiência da seleção para crescimento feita em idades precoces, momento em que as plantas ainda não são capazes de se reproduzirem. Isso implica que, é possível selecionar progênies aos 3 anos de idade, mas não é possível recombinar as plantas selecionadas para produzir a geração seguinte, porque estas ainda não floresceram. Portanto a duração das gerações de melhoramento poderia ser reduzida à metade se houvessem métodos, tais como *top grafting*, que comprovadamente induzissem o aparecimento de flores em plantas juvenis, com grandes benefícios para os programas de melhoramento genético (ASSIS, 1986).

A floração induzida em plantas enxertadas tem-se mostrado adequada em grande número de espécies e híbridos, tais como, *E. urophylla*, *E. urophylla* x *E. grandis*, dentre outros. Plantas enxertadas são as que melhor respondem à aplicação do indutor de florescimento, independentemente da espécie ou de cruzamentos. Normalmente, os enxertos tratados florescem prontamente, apresentando floração adequada no que se refere à quantidade e qualidade. A ocorrência de abortos é pequena e acontece dentro dos padrões de normalidade verificada em plantas no campo. A maturidade fisiológica nos enxertos é fundamental para que as respostas em enxertos sejam melhores do que em plantas juvenis (FONSECA et al., 2010).

2.4 Seleção Genômica Ampla

A seleção genética tem sido praticada com base em dados fenotípicos avaliados a campo. Uma primeira proposição realizada para aumentar a eficiência desse procedimento baseado em dados fenotípicos foi descrita por LANDE e THOMPSON (1990), por meio da seleção auxiliada por marcadores

moleculares (MAS). A MAS utiliza simultaneamente dados fenotípicos geneticamente ligados a marcadores moleculares com alguns locos controladores de características quantitativas (QTL) (RESENDE et al. 2008).

ALZATE-MARIN et al. (2005), utilizaram seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. Por meio da MAS., em três gerações de retrocruzamento, o Programa de Melhoramento do Feijoeiro do BIOAGRO, Universidade Federal de Viçosa (Minas Gerais, Brasil), obteve linhagens de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) com características fenotípicas similares às da cultivar Rudá (recorrente), contendo alelos de resistência à antracnose, ferrugem e mancha angular. Para soja vem-se usando marcadores moleculares para identificar “quantitative trait loci” (QTLs) associados à resistência ao nematóide de cisto da soja (NCS). Foram identificados dois marcadores microssatélites (Satt038 e Satt163) flanqueando o alelo de resistência rhg1 e também marcadores ligados a um QTL que confere resistência à raça 14 do NCS. Esse QTL explica mais de 40% da resistência da soja (*Glycine max*) cultivar Hartwig, uma das principais fontes de resistência ao NCS.

A seleção baseada em marcadores moleculares (MAS) apresenta as seguintes características: (i) requer o estabelecimento (análise de ligação) de associações marcadores-QTLs para cada família em avaliação, ou seja, essas associações apresentam utilidade para seleção apenas dentro de cada família mapeada em espécies alógamas; (ii) para ser útil precisa explicar grande parte da variação genética de uma característica quantitativa, que é governada por muitos locos de pequenos efeitos. Isto não tem sido observado na prática, exatamente em função da natureza poligênica e alta influência ambiental sobre os caracteres quantitativos, fato que conduz à detecção apenas de um pequeno número de QTLs de grandes efeitos, os quais não explicam suficientemente toda a variação genética; (iii) a MAS só apresenta superioridade considerável em relação à seleção baseada em dados fenotípicos, quando o tamanho da família avaliada e genotipada é muito grande (da ordem de 500 indivíduos ou mais). Em função desses aspectos, a

implementação da MAS tem sido limitada e os ganhos em eficiência muito reduzidos (DEKKERS, 2004).

O grande atrativo da genética molecular em prol do melhoramento genético aplicado é a utilização direta das informações do DNA na seleção, de modo a permitir alta eficiência seletiva, agilidade na obtenção de ganhos genéticos com a seleção e baixo custo, quando comparado com o método tradicional baseado em dados fenotípicos (RESENDE, et al. 2008). No início da década de 2000, MEUWISSEN et al (2001), propuseram um novo método de seleção denominado seleção genômica (GS) ou seleção genômica ampla (*genome wide selection – GWS*).

Essa seleção pode ser aplicada em todas as famílias avaliadas nos programas de melhoramento de espécies alógamas, apresenta alta acurácia seletiva para a seleção baseada exclusivamente em marcadores (após terem seus efeitos genéticos estimados a partir de dados fenotípicos em uma amostra da população de seleção) e não exige prévio conhecimento das posições (mapa) dos QTLs, não estando sujeita aos erros tipo II associados (probabilidade de aceitar uma hipótese falsa, ou seja, tomar como verdadeira uma hipótese falsa de ausência de defeitos) à seleção de marcadores ligados a QTLs (FONSECA et. al, 2010).

A GWS é excelente para caracteres de baixa herdabilidade, diferentemente da MAS, que não é útil para tais caracteres (MUIR, 2007).

A GWS é ampla, pois atua em todo o genoma, abrangendo todos os genes que afetam um caráter quantitativo e sem a necessidade de identificar previamente os marcadores com efeitos significativos e de mapear QTLs, como no caso da MAS. Existe uma diferença básica na predição de valores genéticos tradicionais e na predição de valores genômicos, basicamente, os métodos tradicionais usam o fenótipo para inferir sobre o efeito do genótipo e a GWS utiliza o genótipo, com efeito genético pré-estimado em uma amostra da população, para inferir sobre o fenótipo a ser expresso nos candidatos à seleção (RESENDE et al. 2008).

A SWA poderá conduzir a aumento da ordem de 100% na eficiência seletiva, com redução de cerca de 50% no intervalo entre gerações de

melhoramento, ou seja, no ciclo seletivo. Assim, pode ser aplicada vantajosamente em qualquer geração de melhoramento (FONSECA, et. al., 2010).

RESENDE JUNIOR (2010), ao avaliar a altura total, o diâmetro a altura do peito (DAP) e penetração de Pilodyn em duas populações de eucalipto, utilizando marcadores dominantes DArTs, obteve acurácias máximas de 0,67 para altura e 0,69 para DAP em uma população e 0,53, 0,62 e 0,53 para altura, DAP e Pilodyn, respectivamente, na segunda população. Tais valores remetem ganhos que variam entre 430% e 723%, caso o ciclo seja reduzido em sete anos. No entanto, novos estudos devem ser realizados, pois o valor agregado e competitivo de se liberar um material selecionado oito anos antes no mercado de um concorrente pode atingir escalas muito altas aumentando ainda mais o impacto que o uso da SWS pode ter no melhoramento florestal.

2.5 Enxertia

Entende-se por enxertia a transferência de parte de uma planta para outra, passando esta a fornecer-lhe suporte e a servi-lhe de veículo, estabelecendo as comunicações com o sistema radicular e de tal forma que, as duas partes de plantas diferentes, passam a constituir uma só, embora a nível genotípico cada uma delas mantenha, normalmente, a sua individualidade. Para que a enxertia seja bem sucedida tem que haver ligação pelos tecidos das duas partes postas em contato, o chamado calo de cicatrização (GOMES, 1987).

Por se tratar de uma técnica de propagação vegetativa antiga, inúmeras metodologias foram criadas e aprimoradas no decorrer dos anos. A literatura expõe os mais diversos tipos de enxertia, os quais são decorrentes da diversidade de respostas das espécies, do tipo de material vegetativo, bem como da sua facilidade, custo e operacionalidade. A enxertia é agrupada em três categorias diferentes: garfagem, borbúlia e encostia (XAVIER et. al, 2009).

Os trabalhos encontrados na literatura demonstram as dificuldades de obter porcentagens elevadas de pegamento com os métodos tradicionais de

confecção de enxerto para o gênero *Eucalyptus*. BERTOLOTTI et al. (1983), testando o método de enxertia em *Eucalyptus urophylla*, citam que a garfagem em fenda cheia obteve um pegamento de 33,75%, quando avaliados aos 90 e aos 120 dias após a enxertia, da mesma forma que SUITER FILHO e YONEZAWA (1974), estudando vários métodos de enxertia em *Eucalyptus saligna*, encontraram uma sobrevivência de 52% aos 48 dias e de 32% aos 135 dias, utilizando o mesmo método. GURGEL FILHO (1959), estudando o processo de enxertia por garfagem, obteve um pegamento que variou de 0 a 50%, utilizando várias espécies do gênero *Eucalyptus*.

Diante disso, MORAES et al. (2012), testaram um novo método de enxertia, por garfagem lateral para a espécie *Eucalyptus dunnii* que se mostrou promissora, apresentando um índice de sobrevivência de 74% de pegamento para os enxertos produzidos após a avaliação de 180 dias de idade. A mesma metodologia utilizada para a espécie *E. urophylla* apresentou pegamento de 55%; já para o híbrido de *E. urophylla* x *E. grandis*, a percentagem de pegamento foi de 62%.

Quanto mais aparentados (geneticamente próximos) forem o enxerto e o porta-enxerto, maior é a chance de sucesso. Desse modo, o ideal é fazer enxerto sobre a própria matriz a ser clonada, sobre sua progênie, sobre plantas da mesma espécie, e assim por diante (ALFENAS et al. 2009)

A enxertia oferece basicamente três vantagens no desenvolvimento do programa de melhoramento. A primeira delas, como outras técnicas de propagação vegetativa, está ligada ao fato de que pela enxertia consegue-se reproduzir inteiramente genótipos selecionados. A segunda diz respeito à precocidade de floração quando comparada com mudas provenientes de sementes. E a terceira refere-se à característica dos enxertos possuírem copa mais baixa e esgalhada, facilitando os trabalhos de polinização controlada (ASSIS,1986).

2.6 Paclobutrazol na Indução do Florescimento Precoce

O Paclobutrazol® é um retardante de crescimento de amplo espectro, transportável pelo xilema e age inibindo a síntese de ácido giberélico, uma vez

que reduz a taxa de divisão e de expansão celular. Promove também uma série de alterações fisiológicas nas plantas, incluindo a partição de carboidratos e respostas ao estresse hídrico. Além do seu efeito no florescimento precoce das plantas reduz o comprimento dos internódios, o comprimento e largura das folhas e aumenta a produção de flores e frutos (ASSIS,1986).

De modo geral, a aplicação de paclobutrazol não provoca efeitos fitotóxicos (RADEMACHER, 1995), mas ocorrem profundas mudanças na morfologia de plantas tratadas. As mudanças são bem pronunciadas na parte aérea (AURAS, 1997; WHIPKER e McCALL, 2000). Segundo RADEMACHER (1995), o fenômeno decorre, principalmente, de menor alongamento celular, havendo indícios de que também estaria relacionado com menores taxas de divisão celular.

O sucesso do uso do Paclobutrazol para retardar o crescimento vegetativo e aumentar o crescimento reprodutivo (florescimento e frutificação) em árvores frutíferas, estimulou o interesse sobre seu efeito em espécies do gênero *Eucalyptus*. Respostas positivas foram observadas em algumas espécies, quando aplicados em mudas oriundas de sementes. A partir daí intensificaram-se os testes com Paclobutrazol na Association forêt cellulose (AFOCEL-França) e no Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO-Austrália) e em 1992 passou a ser reconhecido seu efeito na precocidade do florescimento de *Eucalyptus* (ASSIS,1986).

2.7 Técnicas para Obtenção de Porta-Enxertos Maduros e Indução do Florescimento Precoce

2.7.1 Top grafting (Eucalyptus)

Com resultados comprovados em várias espécies frutíferas, como cupuaçuzeiro(PEREIRA et al 2009) e macieira (SIMÕES et al 2006) além de *Pinus* e algumas espécies de *Eucalyptus* (ASSIS, 2012), o “*top grafting*” baseia-se na enxertia de propágulos juvenis sobre plantas maduras. É utilizado na fruticultura para substituir, por enxertia, uma copa antiga por uma nova em

pomares de produção de frutas. Normalmente é feito quando se deseja introduzir genótipos com maior grau de melhoramento sem ter atrasos na produção. Assim, se utiliza plantas antigas como base para estabelecer o novo pomar (CTGMF, 2012).

PEREIRA (2006), utilizou a técnica para recuperação de pomares de cupuaçuzeiro infestados por vassoura-de-bruxa, no município de Tomé-Açu-PA, utilizando como porta-enxertos três cultivares resistentes à doença. Foi distinto o comportamento dos clones utilizados, quanto à frutificação, sendo observadas baixa e elevada produtividades, mas por serem dados preliminares, a produção deve ser observada em próximas safras. No entanto a técnica se mostrou viável na recuperação dos pomares em relação à doença.

Para a utilização dessa técnica em eucalipto, preferencialmente as progênies juvenis devem ser enxertadas sobre suas próprias genitoras, evitando, ou reduzindo, possíveis problemas de rejeição por incompatibilidade genética (CTGMF, 2012).

2.7.2 Enxertia de propágulos juvenis em raízes de plantas maduras de *Eucalyptus*

Os estímulos para o início da fase reprodutiva podem vir das raízes, o que é perceptível no caso do “*top grafting*”, onde materiais juvenis enxertados sobre árvores adultas drasticamente podadas florescem no período de um ano. A técnica de enxertia de propágulos juvenis em raízes de plantas maduras de eucalipto consiste em se fazer enxertos de plantas juvenis tendo raízes de plantas velhas, que já atingiram o estágio reprodutivo, como porta-enxertos. Este procedimento já está sendo testado em *Pinus taeda*. Os resultados até o momento demonstram que, o pegamento dos enxertos é normal. Alternativamente os enxertos feitos diretamente nas raízes maduras podem permanecer no campo, o que evita dificuldades operacionais e possíveis danos no transporte (ASSIS, 2012).

2.7.3 Substituição de copa em dupla enxertia

Consiste em usar tecidos fisiologicamente muito velhos como suporte fisiológico para a indução da floração precoce dos propágulos juvenis. A técnica de substituição de copa em dupla enxertia consiste em fazer enxertos, utilizando propágulos de árvores velhas, sobre porta-enxertos comuns e, após o pegamento e crescimento inicial da copa, enxertar os materiais juvenis sobre as mesmas. Devem ser escolhidas árvores com idade superior a 30 anos para servir de tecido adulto para indução da floração em materiais juvenis. Quando os enxertos apresentarem ramos múltiplos desenvolvidos, realizar novos enxertos sobre todos os ramos dos enxertos para a substituição da copa, utilizando propágulos de plantas juvenis (ASSIS, 2012).

2.7.4 Dupla enxertia associada à enxertia de raízes

Associar as metodologias de enxertia de propágulos juvenis em raízes de plantas maduras de eucalipto e substituição de copa em dupla enxertia de modo a criar uma nova planta, que será utilizada como porta-enxerto, com raízes e partes aéreas velhas. Para a execução desta técnica é preciso enxertar ramos de árvore velha em raízes de plantas também velhas. Nesse caso, os enxertos podem ser de ramos da árvore velha em suas próprias raízes (ASSIS, 2012).

2.7.5 Desenvolver porta-enxertos maduros por alporquia

É um método de propagação normalmente usado em plantas facilmente adaptadas a ele e naquelas que apresentam dificuldades de multiplicação (JANICK, 1966).

De acordo com CASTRO & SILVEIRA (2003) os ramos dos alporques devem ser cobertos de maneira que a luz não atinja a porção que foi realizada o anelamento estimulando o desenvolvimento de raízes. Esta combinação de fatores provocará a formação de raízes, que prosseguirão o desenvolvimento

se a referida parte estiver envolvida por substrato úmido. O ramo, posteriormente será separado da planta-mãe, formando uma nova planta.

As raízes são desenvolvidas com auxílio de hormônios e anelamento do ramo que impede que carboidratos, hormônios e outras substâncias produzidas pelas folhas e gemas sejam translocadas para outras partes da planta. Por sua vez, o xilema não é afetado, fornecendo água e elementos minerais ao ramo (SIQUEIRA, 1998).

Alguns tipos de alporquia têm proporcionado o enraizamento de ramos adultos de algumas espécies frutíferas (ASSIS, 2012).

CASTRO et al. (2003) avaliaram a eficiência da alporquia na propagação de pessegueiro na Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS, nos meses de junho a setembro de 2001 com as cultivares Chirua e Maciel. A alporquia foi realizada em quatro épocas. As plantas, na época I (06-06), apresentavam-se dormentes, nas demais épocas, apresentavam flores no estágio de balão ou abertas (épocas II e III – 26-06 e 16-07), enquanto, na época IV (08-08), possuíam brotações e frutos em desenvolvimento. Retirou-se um anel entre 1,0 e 1,5 centímetros de largura da casca de cada ramo, e em cada ferimento colocadas quatro gotas do ácido indolbutírico (3000 mg.L⁻¹). Houve 100% de enraizamento e as raízes apresentaram maior ramificação nas alporquias realizadas na época I. Os resultados foram satisfatórios, indicando que o método pode ser utilizado com sucesso em pessegueiro, principalmente em trabalhos de pesquisa que necessitem de um pequeno número de plantas idênticas geneticamente.

2.7.6 Utilização de clones de florescimento precoce como porta-enxertos

Clones de eucalipto que florescem de forma consistente e sistemática são uma alternativa de material de florescimento precoce para serem utilizados como porta-enxertos. Existem indícios de que a precocidade de florescimento que apresentam estes materiais genéticos pode ser transferida para enxertos juvenis (ASSIS, 2012).

2.7.7 Enxertia em porta-enxertos maduros obtidos por enraizamento de ápices de plantas maduras.

Embora ocorra em baixa porcentagem (1 a 10%), o enraizamento de estacas apicais, de árvores fisiologicamente maduras apresenta possibilidade de se obterem plantas enraizadas e com fisiologia de planta madura. Desta forma, o enraizamento de estacas maduras pode ser útil no desenvolvimento de porta-enxertos fisiologicamente maduros para indução do florescimento em propágulos juvenis. Para aumentar o enraizamento, utilizar AIB na concentração de 6.000 a 8.000 ppm (ASSIS, 2012).

3-OBJETIVOS

O presente trabalho tem os seguintes objetivos:

- Avaliar técnicas de obtenção de porta-enxertos maduros para indução do florescimento precoce em plantas juvenis de espécies e híbridos de *Eucalyptus* spp..
- Desenvolvimento de métodos de indução do florescimento precoce, alternativos ao uso do Paclobutrazol, e legalmente aceitos.
- Otimização da Seleção Genômica Ampla, que demanda, para sua maior eficiência, a indução do florescimento precoce em propágulos juvenis.

4-MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Métodos de enxertia empregados:

4.1.1 Garfagem em Fenda

Para realização do método, o porta-enxerto foi decepado e neste foi feito uma fenda de mais ou menos 2cm (variável de acordo com o diâmetro do porta-enxerto e enxerto utilizados) para encaixe do enxerto, o qual foi preparado em forma cunha de modo que se encaixasse o mais perfeitamente possível no porta- enxerto. Após o encaixe, enxerto e porta-enxerto foram unidos com parafilme e cobertos com sacos de polietileno, para minimizar a perda de turgescência, tendo sua base amarrada frouxamente com barbante. (XAVIER, 2009).

4.1.2 Garfagem em Fenda Incrustada

Neste método os enxertos apresentavam-se mais finos que os porta-enxertos. Por isso fez-se a incrustação do enxerto, de forma triangular, na

lateral do porta-enxerto decepado e, no porta-enxerto, um corte transversal, de forma que permitisse uma adequada união entre as duas partes. Após feito o encaixe, enxerto e porta-enxerto foram unidos com parafilme e cobertos com sacos de polietileno, para minimizar a perda de turgescência, tendo sua base amarrada frouxamente com barbante. (XAVIER, 2009).

4.1.3 Garfagem em Fenda Lateral

Realizou-se um corte lateral no porta-enxerto, em seguida encaixaram-se os enxertos preparados em forma de cunha. Posteriormente, enxerto e porta-enxerto foram unidos com parafilme e cobertos com sacos de polietileno, para minimizar a perda de turgescência, tendo sua base amarrada frouxamente com barbante. No caso das enxertias realizadas em raízes no campo, além do saco de polietileno, os enxertos foram também envolvidos com sacos de papel pardo a fim de propiciar melhor pegamento, em vista do sombreamento proporcionado (XAVIER, 2009).

4.1.4 Enxertia Sob Casca Fendilhada em “T” Normal

Neste método, foi feito um fendilhamento na casca do porta-enxerto na forma de um “T”, onde foi inserido o enxerto, previamente cortado em bisel. Em seguida, enxerto e porta-enxerto foram unidos com parafilme cobertos com sacos de polietileno, para minimizar a perda de turgescência, tendo sua base amarrada frouxamente com barbante. No caso das enxertias realizadas em raízes no campo, além do saco de polietileno, os enxertos foram envolvidos com sacos de papel pardo a fim de propiciar melhor pegamento, em vista do sombreamento proporcionado. (XAVIER, 2009).

4.2 Métodos para obtenção de porta-enxertos maduros:

4.2.1 *Top Grafting*

Para o método *Top Grafting* foram selecionados no pomar *indoor* do viveiro de pesquisa da Klabin, em Telemaco Borba/PR, três vasos de dois materiais que já haviam apresentado florescimento precoce, portanto já apresentavam características maduras, sendo eles os clones 1252 e 2361, ambos híbridos de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. Como enxertos foram utilizadas mudas de seis clones com aproximadamente 100 dias, sendo eles 2361, M32, M18, M108, M99, M97, todos *E. grandis* x *E. urophylla*.

Foram feitos 10 enxertos de cada material juvenil utilizado, totalizando 60 mudas para realização do procedimento. Cada árvore do vaso foi enxertada com dois materiais distintos, sendo 5 enxertos de cada um, totalizando dez enxertos por árvore selecionada no Pomar *indoor*.

Para a enxertia foi utilizado o método de Garfagem em Fenda (descrito no item 4.1.1) (Figura 1 A, B, C, D e E). O tratamento ficou alocado no próprio Pomar *Indoor* da Klabin para o desenvolvimento e a avaliação do método (Figura 1 F), este foi avaliado fazendo-se a contagem do número de enxertos pegos por material avaliado. A partir dos dados obtidos, foi calculado a porcentagem de sobrevivência dos materiais juvenis enxertados em cada um dos clones usados como porta-enxertos.



Figura 1. *Top Grafting* A) Porta-enxerto; B) Enxerto; C) Encaixe do enxerto; D) Selamento com parafilm®; E) Enxerto finalizado; F) Aspecto da árvore com os enxertos.

4.2.2 Enxertia de propágulos juvenis em raízes de plantas maduras de *Eucalyptus*

Para o método foram utilizadas raízes do clone 2361 com seis anos de idade (Figura 2. A). Seis árvores foram selecionados na Região Florestal AIM, talhão A0G na Fazenda Mortandade, e de cada uma foram selecionadas 10 raízes (Figura 2. B). Como materiais juvenis foram utilizados enxertos provenientes de mudas dos clones 2361, M32, M18, M108, M99 e M97 todos *E. grandis* x *E. urophylla*.

O método de enxertia utilizado foi a Enxertia Sob Casca Fendilhada em “T” Normal (item 4.1.4). Após feito o encaixe, enxerto e porta-enxerto foram unidos com parafilme e cobertos com sacos de polietileno, para minimizar a perda de turgescência, tendo sua base amarrada frouxamente com barbante. Os enxertos foram também envolvidos com sacos de papel pardo a fim de propiciar melhor pegamento, em vista do sombreamento proporcionado, estes foram retirados após 27 dias a fim de disponibilizar mais luz e assim estimular a brotação. (Figura 2. C, D, E, F e G). Foram enxertados dois clones por árvore, sendo feitos cinco enxertos de cada, totalizando dez enxertos por árvore (Figura 2. H). Após realizadas todas as etapas do enxerto, a camada de serapilheira retira para a seleção das raízes foi novamente disposta sobre a área (Figura 2. I).

A avaliação foi realizada fazendo-se a contagem do número de enxertos pegos por material. Com os dados obtidos, foi calculado a porcentagem de pegamento dos materiais juvenis enxertados em cada uma das raízes dos clones usados como porta-enxertos.



Figura 2. Enxertia de propágulos juvenis em raízes de plantas maduras de *Eucalyptus*. A) Clone 2361; B) Raiz selecionada; C) Porta-enxerto; D) Enxerto; E) Selamento do enxerto; F) Cobertura com saco de polietileno; G) Cobertura com saco de papel pardo; H) Vista geral dos enxertos; I) Recolocação da serapilheira.

4.2.3 Substituição de copa em dupla enxertia

Para o procedimento foram utilizados como porta-enxertos 10 mudas do clone GG100, após cerca de 60 dias de transplante. Como enxertos foram utilizados estacas de materiais de *Eucalyptus grandis* com idades entre 35-38 anos (Figura 3. A). A coleta dos ramos das árvores foi feita escalando o tronco da mesma. Já com os ramos no chão as estacas foram selecionadas (Figura 3. B e C). De duas árvores de *E. grandis* selecionadas no campo, foram coletados cinco enxertos de cada, totalizando dez enxertos. As estacas coletadas tinham em média 25-30 cm de comprimento. Após a coleta, estas eram acondicionadas em caixas de isopor com gelo até o início da enxertia realizada no Viveiro de Pesquisas Florestais da Klabin. A técnica de enxertia empregada foi a Garfagem em Fenda Incrustada (item 4.1.2). Os enxertos foram mantidos em casa de sombra para desenvolvimento e posterior avaliação do método (Figura 3. D). A avaliação foi realizada fazendo-se a contagem do número de enxertos maduros pegos por material usado como porta-enxerto. Com os dados obtidos, foi calculado a porcentagem de pegamento dos materiais enxertados.



Figura 3. Substituição de copa em dupla enxertia. A) *Eucalyptus grandis* (35-38 anos); B) Ramos para coleta dos enxertos; C) Enxertos; D) Material enxertado.

4.2.4 Dupla enxertia associada à enxertia de raízes

Para o procedimento, raízes de dois materiais em campo foram selecionadas, e da própria copa dessas árvores foram coletados os enxertos para a enxertia nas raízes (Figura 4. B, D e E). Na primeira área, localizada no Patamar da Pesquisa Florestal, na Fazenda Monte Alegre, foram escolhidos dois indivíduos do clone 2361 (*E. grandis* x *E. urophylla*) com aproximadamente seis anos e que já haviam apresentado florescimento precoce. Na segunda área localizada na Região Florestal de Mortandade foram escolhidos dois indivíduos de *Eucalyptus grandis* (35 - 38 anos) (Figura 4. A). Em ambas as áreas foram selecionadas cinco raízes por indivíduo e coletadas de suas respectivas copas cinco enxertos (Figura 4. C).

Após coletados, os enxertos eram acondicionados em caixas de papelão com gelo onde permaneciam até o início da enxertia. O método de enxertia empregado foi a Garfagem em Fenda Lateral (vide item 4.1.3). Após feito o encaixe, enxerto e porta-enxerto foram unidos com parafilme e cobertos com sacos de polietileno, para minimizar a perda de turgescência, tendo sua base amarrada frouxamente com barbante. Os enxertos foram também envolvidos com sacos de papel pardo a fim de propiciar melhor pegamento, em vista do sombreamento proporcionado, estes foram retirados após 27 dias a fim de disponibilizar mais luz e assim estimular a brotação. (Figura 4. F, G, H e I). Após realizadas todas as etapas do enxerto, a camada de serapilheira retirada para a seleção das raízes foi novamente disposta sobre a área.

A avaliação foi realizada fazendo-se a contagem do número de enxertos pegos por material. Com os dados obtidos, foi calculado a porcentagem de pegamento dos enxertos maduros enxertados sobre suas próprias raízes usadas como porta-enxertos.

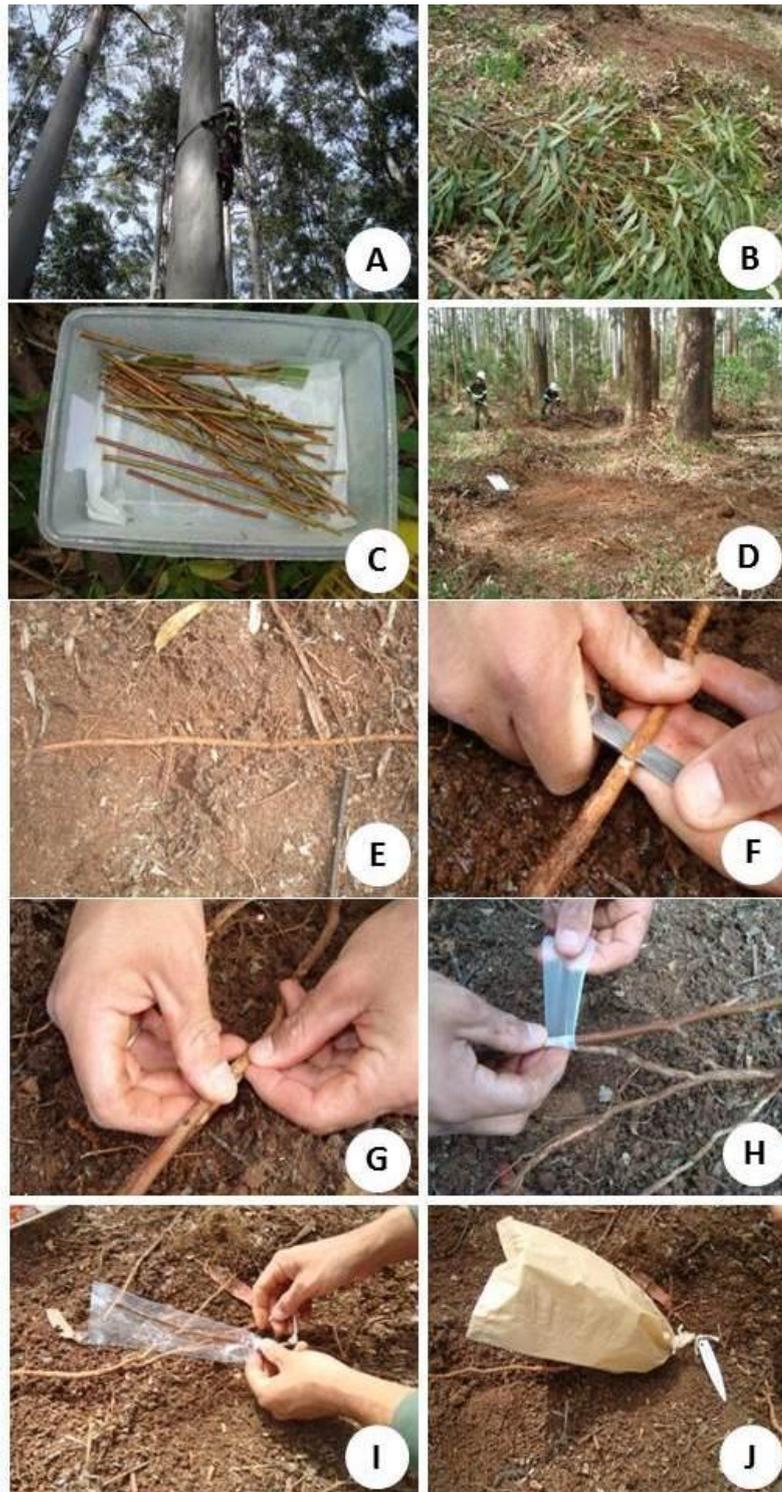


Figura 4. Dupla enxertia associada à enxertia de raízes. A) Coleta dos Ramos; B) Ramos para coleta dos enxertos; C) Enxertos; D) Limpeza da área; E) Seleção das raízes; F) Porta-enxerto radicular; G) Enxertia; H) Selamento do enxerto; I) Cobertura com saco de polietileno; J) Cobertura com saco de papel pardo.

4.2.5 Porta-enxertos maduros por alporquia

Para realização da alporquia foram utilizados ramos de dois materiais, o clone 2361 localizado no patamar da Pesquisa Florestal e de uma matriz de *Eucalyptus grandis* (35-38 anos) localizada na RF Mortandade. Os ramos foram coletados das árvores, acondicionados em caixas de isopor com gelo e levados para casa de vegetação. Foram selecionadas estacas com cerca de 60-70 cm de comprimento para realização da técnica, sendo 10 para cada material.

Os ramos coletados tiveram cerca de 30 cm de suas extremidades basais mergulhadas em água, dentro de garrafas tipo “pet” (Figura 5. A). Após isso, a boca da garrafa foi vedada com parafilme (Figura 5. B). Em seguida foi feito o anelamento dos ramos, logo acima da boca da garrafa, e aplicado ácido 3-indolbutírico (AIB) a 8000 ppm (Figura 5. B e F). As folhas dos ramos tiveram cerca de um terço de seu comprimento eliminado (Figura 5. C). Todo este conjunto foi transferido para vasos de 50 litros e coberto com substrato de enraizamento até acima do nível do anelamento (Figura 5. E, G). Os vasos foram mantidos em casa de vegetação para enraizamento. A avaliação foi realizada fazendo a contagem do número de ramos maduros enraizados de cada clone transplantado.

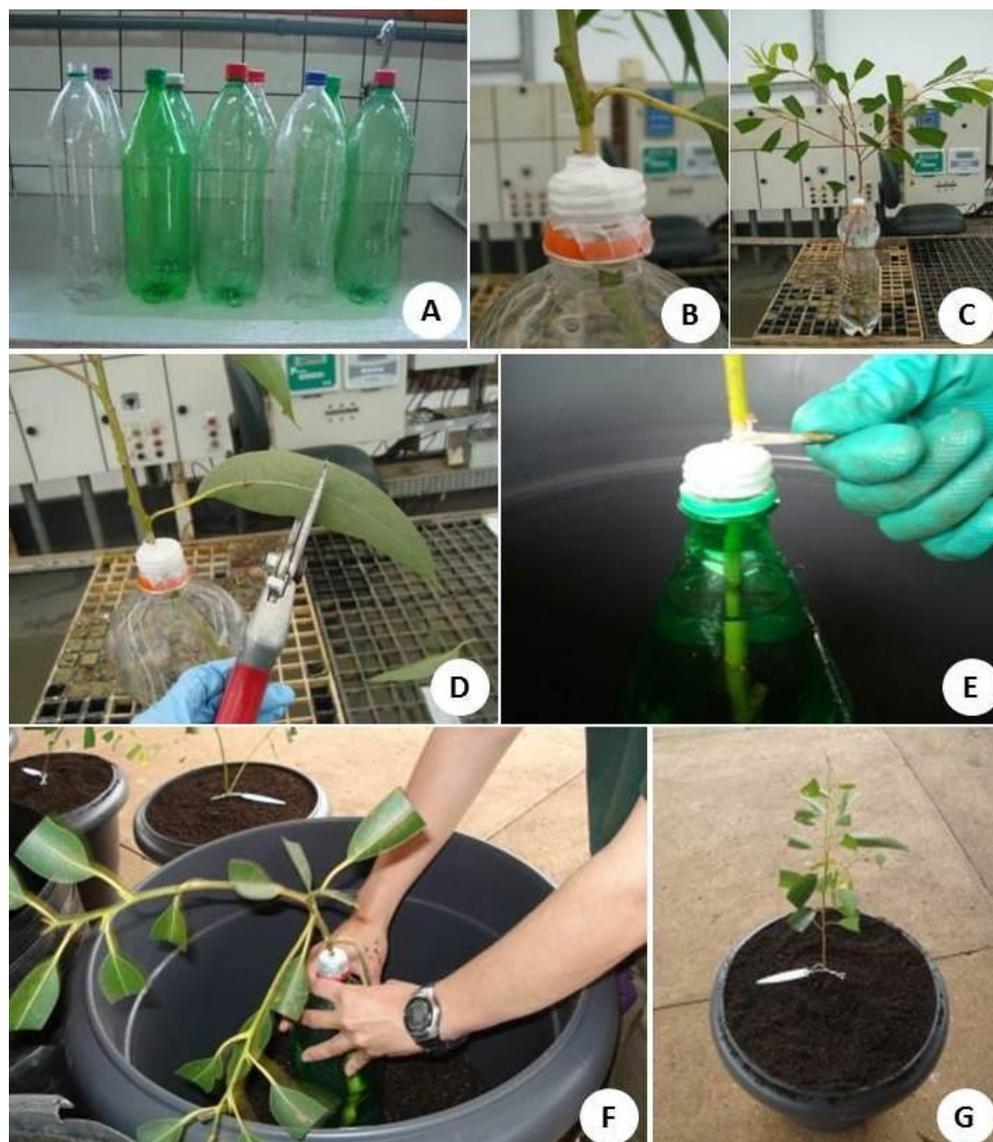


Figura 5. Porta-enxertos maduros por alporquia A) Garrafas pet utilizadas; B) Anelamento do ramo; C) Corte das folhas; D) Material pronto para ser transplantado; E) Aplicação do AIB; F) Transplântio; G) Método completo.

4.2.6 Clones de florescimento precoce como porta-enxertos

Como porta-enxerto foram utilizadas 12 mudas com aproximadamente 70 dias de transplântio do clone 1252 que já havia apresentado florescimento precoce em viveiro. Os enxertos (Figura 6. A) utilizados foram originados de mudas dos clones, 2361, M32, M18, M108, M99 e M97, híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla*, sendo dez enxertos de cada material genético. Em cada muda usada como porta-enxerto foram feitos cinco enxertos (Figura 6. B). A técnica de enxertia empregada foi a Garfagem em Fenda (item 4.1.1). Após a realização do procedimento de enxertia, os materiais foram encaminhados para casa de sombra para desenvolvimento e posterior avaliação do método. A avaliação foi realizada fazendo-se a contagem do número de enxertos juvenis pegos por material usado como porta-enxerto. Com os dados obtidos, foi calculada a porcentagem de pegamento dos enxertos.



Figura 6. Utilização de clones de florescimento precoce como porta-enxertos. A) Enxerto e B) Material enxertado.

4.2.7 Enxertia em porta-enxertos maduros obtidos por enraizamento de ápices de plantas maduras

Como materiais maduros para coleta das estacas foram utilizados o clone 2361, com seis anos, localizado no Patamar do Viveiro de Pesquisa, e um material de *E. grandis* (35-38 anos) localizado na RF Mortandade. Foram selecionadas duas árvores de cada material, sendo feitas 500 estacas de cada uma. Na base de cada estaca foi aplicado Ácido 3-Indol butírico (AIB) na concentração de 8000 ppm (Figura 7. A e B). As estacas foram mantidas em casa de vegetação (Figura C). A avaliação foi realizada por meio da contagem do número de estacas maduras enraizadas por material utilizado.



Figura 7. Enxertia em porta-enxertos maduros obtidos por enraizamento de ápices de plantas maduras. A e B) Aplicação do AIB na base das estacas; C) Aspecto geral das estacas na bandeja.

5-RESULTADOS

No presente estudo foram obtidos resultados referentes à sobrevivência das técnicas testadas, visto que o florescimento requer mais tempo para ser avaliado.

O *Top grafting* foi a técnica que propiciou maior porcentagem de pegamento, chegando a 80% no material M97 enxertado. A porcentagem de pegamento variou com o clone (Tabela 1 e Figura 8).

Na utilização de clones de florescimento precoce como porta-enxertos, sete dos 60 enxertos realizados sobreviveram (Tabela 2 e Figura 9. A e B), o que resulta em uma porcentagem de sobrevivência de 11,7%, sendo que o clone M18 usado como enxerto, apresentou 60% de sobrevivência.

Na enxertia de propágulos juvenis em raízes de plantas maduras (Figura 10. A e B) e na primeira etapa da substituição de copa em dupla enxertia não houve sobrevivência dos enxertos (Figura 11 A, B, C e D).

A primeira etapa da Dupla Enxertia associada à enxertia de raízes também não foi bem sucedida, nenhum dos enxertos realizados sobreviveram, alguns deles permaneceram vivos por um período maior (Figura 12.), no

entanto ao longo do tempo oxidaram, foram colonizados por fungos saprofíticos e morreram (Figura 12. B).

Não foi observado o estímulo à brotação após a retirada dos sacos de papel pardo no método da enxertia em raízes no campo.

O desenvolvimento de porta-enxertos maduros por alporquia e a tentativa de produzir porta-enxertos maduros a partir do enraizamento de ápices de plantas maduras (Figura 14. A, B e C) não foram bem sucedidas, ambos os métodos não apresentaram enraizamento. Na alporquia algumas repetições tiveram a formação de calo ao redor do anelamento no caule (Figura 13. B e C), no entanto não houve diferenciação de raízes (Figura 13. A).

Tabela 1. Sobrevivência dos enxertos em porcentagem na técnica *Top grafting*

Porta-enxerto (indoor)	Vaso	Nº de enxertos por árvores	Clone enxertados	Nº de enxertos por clone	Sobrevivência	% Sobrevivência
2361 (1)	1	10	M108	5	2	40
			2361	5	2	40
2361 (2)	2	10	M97	5	3	60
			M99	5	0	0
2361 (3)	3	10	M32	5	3	60
			M18	5	1	20
1252 (1)	1	10	M108	5	3	60
			2361	5	3	60
1252 (2)	2	10	M97	5	4	80
			M99	5	1	20
1252 (3)	3	10	M32	5	2	40
			M18	5	1	20

*Em vermelho, destaca-se o porta-enxerto 1252 com maior % de sobrevivência do enxerto M97.

Tabela 2. Sobrevivência em porcentagem de enxertos juvenis enxertados em porta-enxertos de clones que apresentam florescimento precoce

Porta-enxerto	Vaso	Enxerto (mudas clonais)	Número de enxertos por vaso	Sobrevivência	% Sobrevivência
1252	1	2361	5	2	40
	2	2361	5	0	0
	3	M32	5	0	0
	4	M32	5	0	0
	5	M18	5	3	60
	6	M18	5	0	0
	7	M108	5	0	0
	8	M108	5	1	20
	9	M99	5	0	0
	10	M99	5	0	0
	11	M97	5	1	20
	12	M97	5	0	0

*Em vermelho, destaca-se o porta-enxerto 1252 com maior % de sobrevivência do enxerto M18.



Figura 8. A, B e C) Top Grafting. Aspecto geral dos enxertos de 30 dias após execução da técnica.

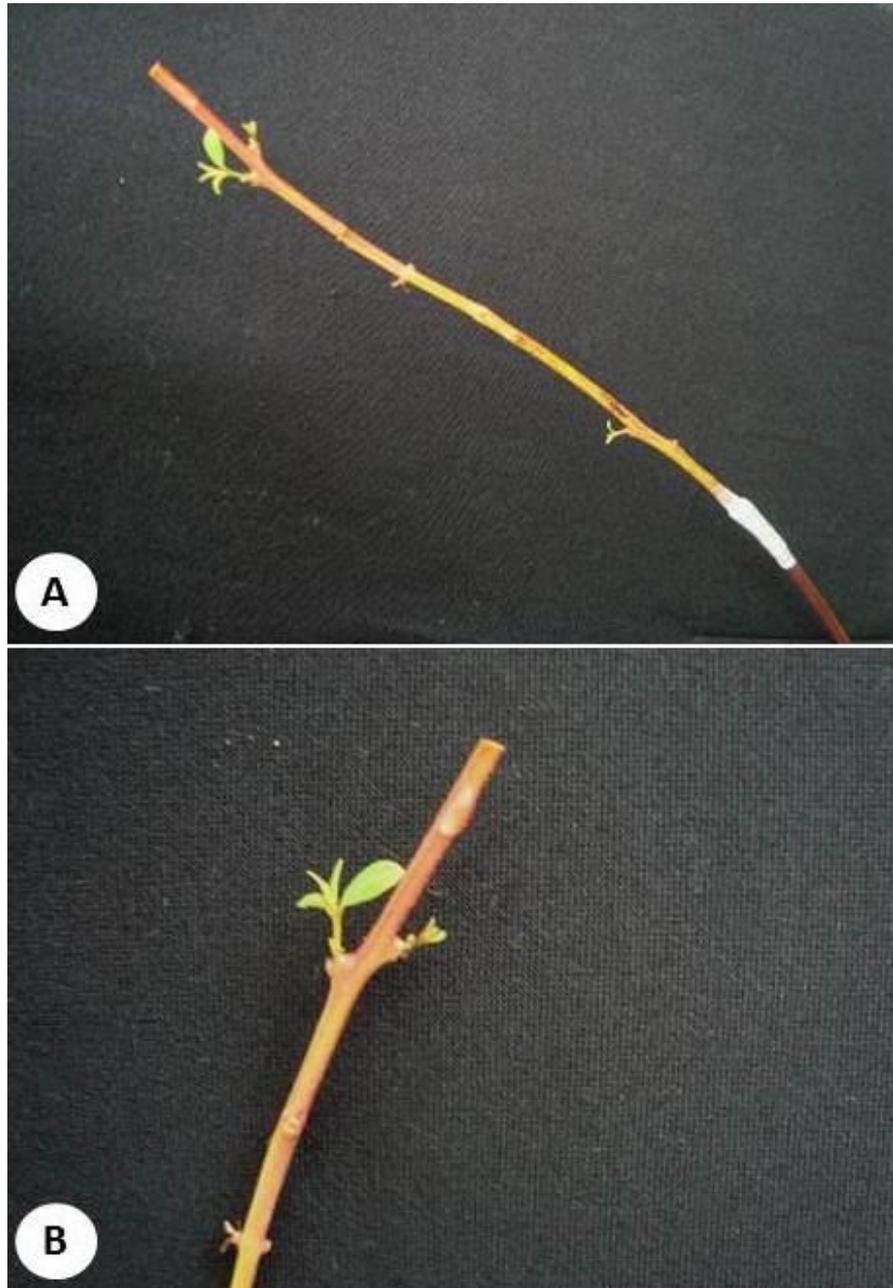


Figura 9. A e B) Brotações em enxerto do clone 2361 (*E. grandis* x *E. urophylla*) aos 38 dias.



Figura 10. A e B) Aspecto geral dos enxertos 40 dias após a enxertia.



Figura 11. Aspecto Geral dos enxertos 40 dias após enxertia. A) e C) Enxertos completamente oxidados apresentando colonização por fungos saprófitos, B) e D) Enxertos apresentando oxidação basal e apical.



Figura 12. Aspecto geral dos enxertos cerca de 35 dias após realização do método. A e B enxertos do clone (*E. grandis* x *E. urophylla*) 2361, C e D enxertos do *E. grandis* (35-38 anos).



Figura 13. Desenvolvimento de porta-enxertos maduros por alporquia. A) Aspecto da parte aérea de um dos materiais 35 dias após o procedimento, B) e C) Formação de calo ao redor do anelamento.

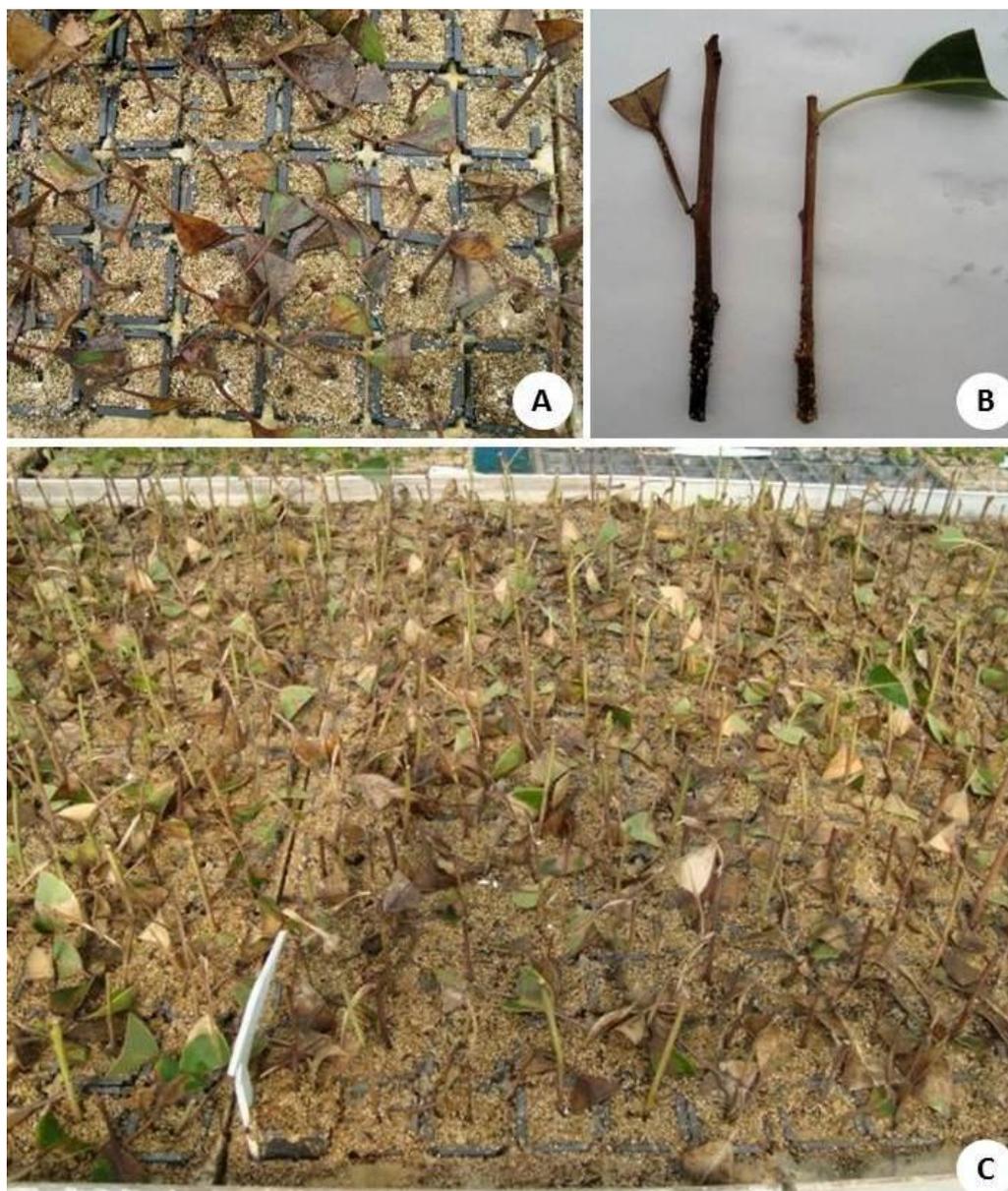


Figura 14. A) Aspecto geral das estacas 35 dias após o estaqueamento, B) Estacas queimadas e apresentando queda foliar, C) Estaca completamente oxidada e estaca em oxidação inicial, ambas sem formação radicular.

6-DISCUSSÃO

A elevada sobrevivência obtida pela técnica de *Top Grafting* pode ser atribuído à compatibilidade do porta-enxerto e enxerto, que apresentavam espessuras semelhantes e à habilidade dos enxertadores que realizaram o trabalho. Segundo XAVIER (2002) a incompatibilidade entre as duas partes envolvidas na enxertia e a falta de habilidade do enxertador pode levar ao baixo pegamento do enxerto e a elevados índices de rejeição em certas espécies de *Eucalyptus*. Uma vez que, enxertos de propágulos juvenis, em plantas fisiologicamente maduras são estimulados a florescer precocemente, como na técnica de *top grafting* observado em *Pinus* e *Eucalyptus* (ASSIS, 2012) espera-se que tais plantas floresçam. Além do *Top Grafting*, a utilização de clones de florescimento precoce como porta-enxertos também propiciou resultados satisfatórios de pegamento, chegando a 60% em um dos materiais testados (Clone M18). A variação de pegamento dos enxertos entre clones pode ter atribuída à compatibilidade genética entre enxerto e porta-enxerto. Se constatado o florescimento precoce nos materiais enxertados, este pode ser um método eficiente para indução do florescimento precoce em *Eucalyptus* spp., e portanto auxiliar nos

programas de melhoramento genético e viabilizar a Seleção Genômica Ampla.

Quanto às facilidades operacionais das técnicas, o *Top Grafting* e a utilização de clones de florescimento precoce como porta-enxertos também se destacaram. Todas as operações foram realizadas no viveiro de Pesquisa da Klabin S/A. O *Top Grafting* foi executado no pomar indoor, o que facilitou o deslocamento, monitoramento e avaliação da técnica. Além disso, por ser o pomar indoor um ambiente controlado e protegido os enxertos ficaram livres das possíveis interferências do ambiente. A segunda técnica foi realizada no galpão de enxertia do viveiro, dentro dos padrões de enxertia adotados pela empresa.

Diferentemente disso foram os métodos de enxertia em raízes no campo, tais técnicas exigiam maior disponibilidade de tempo para implantação, eram mais desgastantes e exigiam deslocamentos periódicos às áreas, algumas distantes, para monitoramento e avaliação dos resultados. Além disso, por estarem no campo, os enxertos estavam sujeitos aos intemperes ambientais.

A dificuldade de encontrar raízes em campo compatíveis com a espessura dos enxertos utilizados dificultou a realização das técnicas de enxertia em raízes. Em plantas lenhosas, à medida que o diâmetro do tronco aumenta, maior é o estado de lignificação do lenho e maior é a dificuldade de cicatrização e união entre enxerto e porta-enxerto. Outro problema, especialmente em espécies da família Myrtaceae, é a oxidação de compostos fenólicos, que dificulta o calejamento e a cicatrização (FACHINELLO et al. 2005).

Segundo HARTMANN et al. (1990), a rápida união entre as partes é fundamental para o sucesso da enxertia, pois diminui o período em que o enxerto poderia sofrer desidratação. As condições de precipitação escassas da época de implantação dos ensaios, a utilização de enxertos juvenis em algumas técnicas e, o estresse sofrido pelos enxertos em campo levaram à desidratação e ao esgotamento de reservas.

O pegamento dos enxertos pelas técnicas de enxertia em raízes no campo pode ter sido comprometido pela cobertura dos enxertos com sacos de papel, uma vez que as áreas eram bem sombreadas naturalmente, podendo a proteção do papel ter suprimido o desenvolvimento dos enxertos pela falta de luz.

O insucesso do enraizamento de estacas apicais de indivíduos maduros e da alporquia pode ser atribuído à idade das matrizes usadas para coleta dos enxertos, e conseqüentemente o elevado grau de maturação dos ramos apicais. Uma das mais consistentes expressões da maturação em plantas lenhosas tem sido a transição da alta para a baixa capacidade de enraizamento de estacas caulinares e foliares (HACKETT, 1987, ELDRIDGE et al., 1994). Para algumas espécies lenhosas, estacas de mudas juvenis, provenientes de sementes, enraízam facilmente, enquanto outras, provenientes de plantas mais velhas enraízam esporadicamente, ou definitivamente não enraízam (ZOBEL e TALBERT, 1984).

7-CONCLUSÕES

- Das sete técnicas de enxertia avaliadas, apenas o *Top Grafting* e a enxertia em clones de florescimento precoce forneceram resultados satisfatórios de pegamento dos enxertos e facilidade operacional.
- Embora as demais técnicas não tenham apresentado sucesso, foram feitas observações importantes sobre as mesmas. Portanto, tais observações e constatações podem servir de guia para a reavaliação das técnicas em trabalhos futuros.

8-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAF, Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas. **Anuário Estatístico da ABRAF 2013, ano base 2012**. Brasília, 2013. 145p.

ALFENAS, A. C.; ZAUSA, E. A. V.; MAFFIA, R.G.; ASSIS, T.F. Clonagem e Doenças do Eucalipto. Viçosa. Editora UFV, 2ª edição, 500p., 2009.

ALZATE-MARIN, A.L., CERVIGNI, G.D.L., MOREIRA, M.A. & BARROS, E.G. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. *Fitopatologia Brasileira* 30:333-342. 2005.

ASSIS, T.F. indução do florescimento precoce em plantas juvenis de *Eucalyptus*. Relatório técnico de visita á Klabin. Outubro, 2012, 6p.

ASSIS, T. F. Estimativas de herdabilidades e correlacoes em progenies jovens de *Eucalyptus grandis*. Dissertação de mestrado, 1980.

ASSIS, T.F. 1986 - **Melhoramento genético do eucalipto** - Informe Agropecuário – EPAMIG. 12 (141). P. 36-46.

AURAS, N. E. 1997. Efeitos do paclobutrazol sobre anatomia foliar, crescimento da parte aérea, distribuição de biomassa e trocas gasosas em girassol. Tese de doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil 88p.

BERTOLOTI, G.; MORA, A.L.; HIGA A.R.; GONÇALVES, A.N.; FERREIRA, M. Enxertia de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake pelos métodos de garfagem em fenda cheia e borbulhia em janela aberta. *Silvicultura*, São Paulo, v.8, n.32, p.755–756, 1983.

CASTRO, L. A. S.; SILVEIRA, C. A. P. Propagação vegetativa do pessegueiro por alporquia. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal-SP, v. 25, n. 2, p. 368-370, 2003.

CTGMF- Comissão Técnica de genética e Melhoramento Florestal – SIF-UFV – Comissão de Indução do Florescimento Precoce. Coordenador: Teotônio Francisco de Assis.

DEKKERS, J. C. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons. *Journal of Animal Sciences* 82; 313-328, 2004.

ELDRIDGE, K., DAVIDSON, J., HARDWIID, C., VanWYK, G. *Eucalypt domestication and breeding*. Oxford: Clarendon Press, 1994. p. 228-246.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C. Propagação de plantas frutíferas. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 221p.

FONSECA, S.M.; RESENDE, M. D. V.; ALFENAS, A. C.; GUIMARÃES, L. M. S.; ASSIS, T. F.; GRATTAPAGLIA, D. *Manual Prático de Melhoramento Genético do Eucalipto*. Viçosa. Editora UFV, DPF, 200p., 2010.

GOMES, A. L. Propagação Clonal: princípios e regularidades. Vila Real: Universidade de Trás-os Montes e Alto Douro, 1987. 67p. (Série Didáctica, Ciências Aplicadas, 1).

GURGEL FILHO, O.A. A propagação vegetativa de espécies florestais. *Revista de Agricultura*, Piracicaba, n.34, p.119-130, 1959.

HACKETT, W. P. Donor plant maturation and adventitious root formation. In: DAVIES, T. D., HAISSIG, B. E., SANKHLA, N. Adventitious root formation in cuttings. Portland: Dioscorides Press, 1987. p. 11-28 (Advances in Plant Sciences Series, 2). (a).

HARTMANN, N.T.; KESTER, D.E.; DAVIES JUNIOR, F.T. Plant propagation: principles and practices. 5th ed. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1990. 647p.

JANICK, J. A ciência da horticultura. Rio de Janeiro: USAID, 1966. 485p.

KAGEYAMA, P.Y. Variação genética em uma população de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden. Tese de Doutorado. ESALQ, Piracicaba, SP, 125p., 1980.

KAGEYAMA, P.Y, VENCOVSKY R. Variação genética em progênies de uma população de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden. IPEF, Piracicaba, 24: 9-26, 1983.

LANDE, R. THOMPSON, R. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. Genetics. 1990 Mar;124(3):743–756.

MEUWISSEN, T. H. E.; GODDARD, M. E.; HAYES, B. J. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. Genetics, v. 157, p. 1819-1829, 2001.

MORAES, C. B., SILVA, P. H. M., ABÍLIO, F. M., PIERONI, G. B., GONÇALVES, A. N., MORI, E. S. Técnicas de enxertia: método modificado de enxertia em *Eucalyptus*. Série Técnica IPEF, v. 16, n. 37, agosto de 2012

MUIR, W. M. Comparison of genomic and traditional BLUP estimated breeding value accuracy and selection response under alternative trait and genomic parameters. Journal of Animal Breeding and Genetics, v. 124, p. 342-355, 2007.

PEREIRA, N. N.; SANTOS, V. S.; ALVES, R. M. UTILIZAÇÃO DA ENXERTIA DE COPA NA RECUPERAÇÃO DE POMARES DE CUPUAÇUZEIRO. Anais do 7º Seminário de Iniciação Científica da UFRA e 13º Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA 01 a 04 de dezembro de 2009.

RADEMACHER, W. 1995. **Growth retardants: biochemical features and applications in horticulture.** Acta Hort., 394: 57-73.

RESENDE, M. D. V.; LOPES, P.; SILVA, R. L.; PIRES, I. E. **Seleção genômica ampla (GWS) e maximização da eficiência do melhoramento genético.** Pesquisa Florestal Brasileira 56: 63-67, 2008.

RESENDE JUNIOR, Márcio Fernando Ribeiro, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, Abril de 2010. **Seleção genômica ampla no melhoramento vegetal.** Orientador: Cosme Damião Cruz. Coorientadores: Marcos Deon Vilela de Resende e Fabyano Fonseca e Silva.

SIMÕES, F.; CARVALHO, R. I. N. **Avaliação de diferentes métodos de sobre-enxertia na substituição da cultivar de macieira (*Malus domestica* Borkh.) Gala por Princesa.** Acta Sci. Agron. Maringá, v. 28, n. 4, p. 493-498, Oct./Dec., 2006

SIQUEIRA, D.L. de. **Produção de mudas frutíferas. Viçosa: CPT, 1998. 74p.**

SUITER FILHO, W.; YONEZAWA, J.T. **Survival of *Eucalyptus saligna* grafted by different methods.** New Zeland Journal of Forestry Science, New Zeland, v.4, n.2, p.235, 1974.

WHIPKER, B. E.; MCCALL, I. 2000. **Response of potted sunflower cultivars to daminozide foliar sprays and paclobutrazol drenches.** HortTechnol., 10: 209-211.

XAVIER, A. **Silvicultura clonal I: princípios e técnicas de propagação vegetativa.** Viçosa, MG: UFV, 2002. 64p (Caderno Didático, 92).

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas.** Viçosa, MG: Ed. UFV, 272p., 2009.

ZOBEL, B., TALBERT, J. **Applied forest tree improvement.** New York, North Carolina State University, 1984. 505 p.