# IPEF n.47, p.44-49, mai.1994

## RECEPTIVIDADE ESTIGMÁTICA EM Eucalyptus dunnii

Valderês Aparecida de Sousa<sup>(1)</sup> José Elidney Pinto Júnior<sup>(1)</sup>

**ABSTRACT** - Given the importance of stigmatic receptivity in the reproductive process of **Eucalyptus dunnii** Maiden, a study was carried out in order to provide useful information to improve the efficiency of controlled pollination twenty flower buds were collected from six branches from different positions in the crown of two clones, in a clone bank established at Colombo, State of Parana. Controlled pollinators with a mixture of pollen from three other clones in the same bank were done at anthesis and every other day thereafter, for a period often days (six pollinations in total). The number of capsules (fruits) was counted monthly for six months after the emasculation. After six months, all fruits were collected and the seeds were extracted. The number of seeds per capsule and the total number of capsules produced differed between clones. The maximum efficiency of controlled pollination in **E. dunnii** is obtained when pollinations are performed six days after anthesis.

**RESUMO** - Devido à sua importância para os estudos de biologia reprodutiva da espécie e visando oferecer subsídios para melhorar a eficiência da polinização controlada, estudou-se a receptividade do estigma de **E. dunnii** Maiden, em um banco clonal, com 8 anos de idade, no município de Colombo, PR. Seis ramos em diferentes posições da copa de dois clones foram amostrados para a seleção de 20 botões florais, no estágio adequado à emasculação. Seis polinizações foram feitas, com intervalo de dois dias entre elas, no período de 10 dias, utilizando-se uma mistura de pólen de 3 clones diferentes do mesmo banco. As avaliações foram feitas mensalmente, na forma de contagem de cápsulas (frutos), até 180 dias após a emasculação Após esse período, os frutos foram coletados e as sementes extraídas. A quantidade de sementes produzidas por cápsula e o número total de cápsulas resultante das polinizações controladas variam entre clones. Para a maximização da eficiência da polinização controlada de **E. dunnii**, recomenda-se que esta seja feita ao redor do sexto dia após a antese.

# INTRODUÇÃO

A importância da polinização controlada é incontestável para os programas de melhoramento florestal, especialmente como meio de obtenção de material genético com características de alta produtividade e adaptabilidade às condições ambientais adversas. Com a polinização controlada, é possível assegurar um suprimento adequado de pólen, em termos qualitativo e quantitativo, durante o período de maior receptividade do estigma, garantindo sementes de qualidade superior. Muitos estudiosos têm reportado que a abelha, principal agente polinizador dos eucaliptos, pode ser utilizada para melhorar a eficiência da polinização em áreas produtoras de semente. Contudo, HODGSON (1976a) observou que 84% das visitas das abelhas realizadas em diversos estágios florais de **E. grandis** se deram

.

<sup>(1)</sup> EMBRAPA/CNPFLORESTAS - Caixa Postal 319-83405-970 - Colombo, PR.

nos dois dias subsequentes à antese. Devido à natureza protrândrica das flores de **Eucalyptus**, com receptividade do estigma após esse período, isto poderá significar baixa eficiência da polinização. Para assegurar uma boa eficiência desta, portanto, é necessário conhecer detalhadamente a biologia reprodutiva, dentre outros fatores envolvidos no processo.

A polinização controlada em espécies de **Eucalyptus**, como acontece em muitos outros gêneros, é um processo laborioso, com muitas possibilidades de viés em suas diversas etapas, podendo resultar em baixa produção de sementes.

O conhecimento da receptividade do estigma, além dos processos de desenvolvimento floral e de liberação do pólen, é fundamental aos estudos da biologia reprodutiva, conforme enfatizam HODGSON (1976a) e GRIFFIN & HAND (1979). É importante determinar o período de receptividade máxima do estigma para racionalizar o processo, em termos de tempo dispendido e quantidade de pólen utilizada. Freqüentemente, devido à falta de informações sobre o período exato de receptividade do estigma, as polinizações são feitas repetidas vezes, para assegurara produção de sementes. HODGSON (1976b) relata que a maioria do pólen nas polinizações controladas de **E. grandis** é perdida, quando aplicada imediatamente após a antese (estigma não receptivo).

Em Eucalyptus, o período de receptividade do estigma pode variar com o subgênero (PRYOR, 1951, ELDRIDGE, 1970). De acordo com GRIFFIN & HAND (1979), espécies do subgênero Monocalyptus mostram desenvolvimento floral mais lento que as espécies do subgênero Symphyomyrtus, com reflexo também no período de receptividade do estigma. Esta pode variar também, entre espécies de um mesmo subgênero (GRIFFIN & HAND, 1979) e dentro de uma mesma espécie. Segundo estes autores, diferenças anuais no ponto de receptividade máxima do estigma de E. regnans relacionamse às condições atmosféricas. Tanto a redução da temperatura quanto o aumento da umidade relativa do ar tendem a provocar um atraso de até dois dias no ponto de receptividade máxima do estigma daquela espécie. HODGSON (1976a) observou que o efeito da temperatura entre locais de distintas altitudes resulta em uma diferença de vários dias na receptividade do estigma de E. grandis. GRIFFIN & HAND (1979) ressaltaram, ainda, que podem existir diferenças na receptividade floral dentro de uma mesma árvore. A similaridade entre taxas de desenvolvimento floral de diferentes espécies do subgênero Symphyomyrtus crescendo em hemisférios diferentes, de acordo com esses mesmos autores, sugere um forte controle genético do processo.

Embora **E. dunnii** apresente um grande potencial para regiões subtropicais, destacando-se a sua relativa tolerância às geadas, é desejável o seu cruzamento com espécies que propiciem maior produtividade. Essa hibridação é complexa, em função das dificuldades de florescimento da espécie e do período restrito do ano em que os cruzamentos controlados podem ser efetuados. O conhecimento do período adequado para a polinização possibilitaria a racionalização do processo, incluindo a otimização do uso do pólen desta espécie.

A proposta deste trabalho é identificar o período de máxima receptividade do estigma de **E. dunnii**, com o objetivo de promover uma eficiente polinização controlada.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Observações sobre o período de receptividade do estigma foram efetuadas em um banco clonal de **E. dunni**, localizado no município de Colombo, PR, com 8 anos de idade,

constituído de material genético originário de Acacia Creek - NSW - Austrália, introduzido em Otacílio Costa, Santa Catarina (TABELA 1).

TABELA 1. - Localização geográfica da origem e procedência de *E. dunnii* e do banco clonal.

Local	Latitude	Longitude	Altitude (m)	Precipitação (mm)*	Temperatura (°C)
Acacia Creek – NSW/Austrália	28° 23'S	152° 19'E	780	1.082	17,0
Otacilio Costa – SC/Brasil	27° 04'S	50° 04'W	800	1.802	17,6
Colombo – PR/Brasil	25° 20'S	49° 14'W	920	1303	17,0

<sup>\*</sup>média anual

Por ocasião da experimentação, o banco clonal continha 18 clones e 61 árvores, com 37 m<sup>2</sup> de área por árvore.

Seis ramos situados em diferentes posições da copa de cada clone foram amostrados para a seleção de 20 botões florais, com o opérculo próximo da abscisão. Esse é, segundo HODGSON (1976a), o estágio mais adequado à emasculação. Somente este indicador foi utilizado, uma vez que a mudança de coloração (de verde para amarelo) do opérculo interno não foi observada nitidamente nos clones estudados. Antes da emasculação, tomou-se o cuidado de eliminar as flores abertas e os botões verdes dos ramos amostrados, para prevenir a contaminação por pólens indesejáveis.

Devido à dificuldade de encontrar todos os botões florais no estágio apropriado para a emasculação e face à necessidade de emasculá-los em um único dia, foram utilizados somente dois clones do banco. Procurou-se efetuar a emasculação de todas as flores do experimento no mesmo dia pela conveniência de homogeneização das condições climáticas para os diferentes tratamentos, conforme recomendação de GRIFFIN & HAND (1979). Além disso, essa medida possibilita a padronização do pólen quanto à sua germinação, unidade final de reidratação e à otimização de seu uso.

Após a emasculação feita com bisturi, jatos d'água foram aplicados para eliminar possíveis grãos de pólen remanescentes. Em seguida, cada ramo contendo os botões florais foi protegido por um saco de polinização, feito de tecido não tramado (ELDRIDGE, 1970), suportado por uma espiral de arame, com as extremidades vedadas com chumaços de algodão, conforme ilustrado por DORMAN (1976).

O pólen utilizado havia sido extraído em 20 de fevereiro de 1991 e armazenado em congelador à temperatura de 18°C negativos. Após seis dias nessas condições, foram avaliados o teor de umidade e porcentagem de germinação dos pólens de cada clone (TABELA 2).

TABELA 2. - Teor de umidade e porcentagem de germinação do pólen de três clones de *E. dunnii* armazenado por seis dias.

Clone	Umidade (%)	Germinação (%)
36	5,77	13,01
38	3,83	14,31
01	5,95	16,50

Antes de ser utilizado, o pólen foi rehidratado em câmara úmida (25°C e 99% de umidade relativa do ar) por 18 horas. As polinizações foram feitas com intervalos de dois dias, do dia 0 (data da emasculação) ao dia 10. Visando reduzir os efeitos (de origem genética ou fisiológica) de árvores individuais, utilizou-se uma mistura de pólen proveniente de três diferentes clones do mesmo banco. Na polinização, apenas uma das extremidades do invólucro de proteção foi aberta, para evitar riscos de contaminação, e fechada logo após a aplicação do pólen. Toda a estrutura foi mantida envolta por um saco plástico, durante três dias, 2 fim de evitar o arraste do pólen pelas chuvas. Trinta dias após a polinização, os sacos de polinização foram retirados. A contagem do número de cápsulas formadas foi feita mensalmente, por seis meses. Após esse período, os frutos foram coletados, submetidos à secagem em temperatura ambiente (à sombra) e suas sementes extraídas para a avaliação.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O clone 27 foi o que apresentou o maior número de frutos resultantes da polinização controlada (TABELA 3).

A maior queda de frutos ocorreu nos primeiros trinta dias após cada polinização, para ambos os clones (TABELA 3). O clone 16 apresentou as maiores perdas neste período. A partir dai, até 6 meses após a polinização, praticamente não houve mais queda de frutos. Embora tenha mostrado um maior número de frutos na avaliação aos 180 dias, resultante de qualquer uma das seis polinizações realizadas (TABELA 3), o clone 27 apresentou menor porcentagem de cápsulas cheias (TABELA 4). Com exceção da polinização efetuada no segundo dia após a emasculação, o número médio de sementes por cápsula, observado nas demais polinizações. foi sempre maior para o clone 27 (TABELA 4 e FIGURA 1). Em termos de amplitude de variação do número de sementes por fruto, os maiores valores também foram observados para o clone 27.

TABELA 3. – Total de frutos resultantes de polinização efetuadas em clones de *E. dunnii*.

Avaliações	Dias decorridos da emasculação à polinização											
(dias)		0	2	2	4	1		6	8	3	1	0
	C27	C16	C27	C16	C27	C16	C27	C16	C27	C16	C27	C16
0	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
30	12	6	11	8	9	3	14	8	12	3	20	5
60	12	4	11	7	9	3	14	7	11	1	19	5
90	11	4	11	7	9	3	13	7	11	1	19	5
120	11	4	11	7	9	3	11	7	11	1	18	5
150	11	4	11	7	9	3	11	7	11	1	18	5
180	11	3	11	7	8	3	11	7	11	1	17	5

C27 = Clone 27

C16 = Clone 16

TABELA 4. - Porcentagem de frutos cheios e número médio de sementes por fruto resultantes de polinizações de vinte estigmas de clones de *E. dunnii*, 180 dias após a emasculação.

Dias decorridos	Clo	ne 27	Clone 16		
da emasculação a polinização	% de frutos cheios	Nº médio de sementes por fruto (amplitude)	% de frutos cheios	Nº médio de sementes por fruto (amplitude)	
0	54.5	3.3 (1-10)	100.0	1.0(-)	
2	45.5	1.8 (1-2)	85.7	2.5 (1-7)	
4	37.5	8.3 (1-16)	100.0	3.0 (1-6)	
6	81.8	23.5(1-40)	100.0	3.4 (2-5)	
8	18.2	12.0 (6-18)	100.0	1.0(1)	
10	35.3	4.0 (1-6)	80.0	2.2 (1-3)	

Em ambos os clones, a produção de sementes foi constatada nas polinizações efetuadas desde o dia da emasculação (dia 0) até a última, realizada 10 dias após. Este fato foi observado também em **E. grandis**, por HODGSON (1976a), cujo período também esteve compreendido nos primeiros 10 dias após a emasculação.

A produção máxima de sementes por cápsula, em ambos os clones, foi verificada na polinização efetuada no sexto dia após a emasculação. Isto coincide aproximadamente com os resultados obtidos por HODGSON (1976a e 1976b), em 7 clones de **E. grandis**, (subgênero **Symphyomyrtus**). No caso do subgênero **Monocalyptus**, entretanto, GRIFFIN & HAND (1979) observaram uma produção máxima de sementes por cápsula em polinizações efetuadas entre o 10°. e o 14°. dia após a emasculação de botões florais de **E. regnans**.

Segundo HODGSON (1976a), a produção máxima de sementes de **E. grandis** resulta de polinizações efetuadas no período em que os estigmas estão se tornando

entumescidos e pegajosos. Isto caracteriza o período de máxima receptividade destes. Segundo GRIFFIN & HAND (1979), esse período de receptividade do estigma varia com a espécie e apresenta comportamentos similares entre espécies do mesmo subgênero. Assim, para uma maximização da produção de sementes, a polinização controlada deverá ser efetuada no momento em que os estigmas estejam entumescidos e pegajosos.

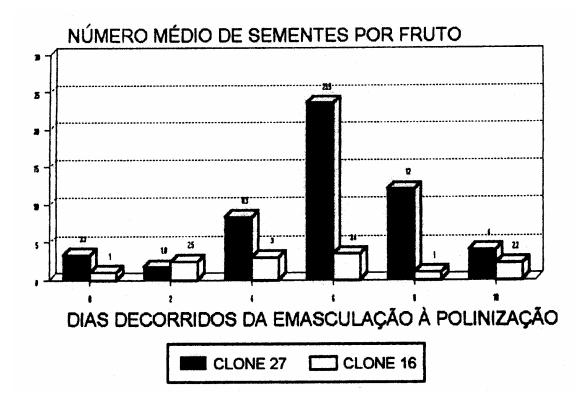


FIGURA 1 – Número médio de sementes resultantes das polinizações em clones de *E. dunnii*, 180 dias após a emasculação.

Os resultados deste trabalho mostraram que uma maior eficiência da polinização de **E. dunnii** poderá ser alcançada quando realizada no sexto dia após a antese.

## **CONCLUSÕES**

O presente trabalho permitiu as seguintes conclusões:

- a) para a maximização da eficiência da polinização controlada e, consequentemente, uma melhor produção de sementes de **E. dunnii**, esta deverá ser realizada em torno do sexto dia após a antese (emasculação); e
- b) o entumescimento e pegajosidade do estigma são características importantes que podem auxiliar na determinação do ponto de receptividade máxima do estigma. Para  $\bf E$ . **dunnii**, no entanto, não foi possível utilizá-las devido à dificuldade para sua percepção neste trabalho.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DORMAN, K.W. **The genetics and breeding of Southern pines**. Washington, USDA/Forest Service, 1976. 407p.
- ELDRIDGE. K.G. Breeding system of **Eucalyptus regnans**. In: WORKING GROUP MEETING ON SEXUAL REPRODUCTION OF FOREST TREES, 1, Varparanta, 1970. **Proceedings**. Varparanta, 1970. v.1
- GRIFFIN. A.R. & HAND. F. C. Post-anthesis development of flowers of **Eucalyptus regnans** F Muell and the timing of artificial pollination. **Australian forestry research**, Canberra, 9(1): 9-15, 1979.
- HODGSON. L.M. Some aspects of flowering and reproductive behaviour in **Eucalyptus grandis** (Hill) Maiden at J.D.M.. Keet Forest Research Station (Formerly Zomerkomst Forest Research Station): 1 flowering, controlled pollination methods, pollination and receptivity. **South African forestry journal**, Pretoria (97): 18-28. 1976a.
- HODGSON, L. M. Some aspects of flowering and reproductive behaviour in **Eucalyptus grandis** (Hill) Maiden at J.D.M.. Keet Forest Research Station (Formerly Zomerkomst Forest Research Station): 3 relative yield, breeding systems, barriers to selfing and general conclusions. **South African forestry journal**, Pretoria (99): 53-8, 1976b.
- PRYOR. L. D. Controlled pollination of **Eucalyptus**. **Proceedings of the Linnaean Society of New South Wales**, NSW (76): 135-9, 1951