

ESTUDO COMPARATIVO DO DESEMPENHO FOTOSINTÉTICO ENTRE MUDAS MICROPROPAGADAS E ESTAQUEADAS DE 4 CLONES DO HÍBRIDO

Eucalyptus grandis X *E. urophylla**

Mario Takao Inoue

Universidade Federal do Paraná
Curitiba - PR - Brasil
Pesquisador Bolsista do CNPq

José Demetrius Vieira

Chamflora Agrícola e Florestal Ltda.
Mogi-Guaçu - SP

Gabriel Correa

Centro Nacional de Pesquisa de Floresta
EMBRAPA - Colombo - PR

RESUMO

O objetivo do trabalho foi comparar o desempenho fotossintético entre mudas de micropropagação e mudas de enraizamento de estacas de clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. As medições da fotossíntese líquida foram efetuadas em analisador infra-vermelho, usando-se a técnica de folhas destacadas, alojadas em mini-câmaras com ar climatizado. A intensidade de luz foi fixada em $650 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ e a temperatura em 25°C .

A técnica de folhas destacadas com a base do pecíolo envolto com algodão embebido em água destilada demonstrou-se eficiente para medições instantâneas da assimilação. Permite, desta forma, um elevado número de repetições sem destruição total da planta.

O estudo demonstrou que, de clones idênticos, as mudas oriundas de estacas apresentaram um desempenho fotossintético superior às mudas oriundas de micropropagação. Enquanto estas exibiam valores médios em torno de $1,0 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, as estaqueadas alcançavam valores maiores do que $3,0 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$.

Discutiu-se as prováveis causas do desempenho diferenciado, baseando-se no conteúdo de clorofila das plantas.

INTRODUÇÃO

A silvicultura brasileira tem experimentado significativo progresso graças aos trabalhos dedicados à seleção e ao melhoramento genético das espécies florestais utilizadas industrialmente. Nos últimos anos, os programas de seleção têm sido implementados pelos avanços nas técnicas de propagação vegetativa, notadamente no enraizamento de estacas (CAMPINHOS & IKEMORI, 1983; DEWULLE et al., 1983) e na micropropagação via cultura de tecido (HARTOEY & BARKER, 1983; GONÇALVES, 1983; FANTINI & GRAÇA, 1989; GRAÇA & MENDES, 1989; WIECHETECK et al.,

1989). A procura por espécies cada vez mais produtivas passa, via de regra, pelo aprimoramento nas técnicas de seleção, e entre estas, a da seleção precoce. Assim, tem sido estudados diferentes parâmetros biométricos para a determinação de relações entre a idade juvenil e a adulta. Mais recentemente, a atenção tem sido voltada para parâmetros fisiológicos, como a produtividade fotossintética (BLAKE et al., 1988; INOUE & RIBEIRO, 1988). Uma provável interferência da técnica de produção de mudas sobre o processo fotossintético foi indicada pela primeira vez por INOUE & ODA (1988), que estudaram o potencial fotossintético de clones de *Eucalyptus* em mudas estaqueadas e mudas micropropagadas.

O objetivo do presente trabalho foi estudar o desempenho fotossintético de clones de *Eucalyptus* em função da técnica utilizada na produção da muda.

MATERIAIS E MÉTODOS

De 4 clones do híbrido *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*, foram produzidas mudas via enraizamento de estacas e via micropropagação. Com 3 meses de idade, as mudas foram submetidas à determinação da fotossíntese líquida e do conteúdo de clorofila nas folhas. A fotossíntese foi determinada em folhas destacadas, com a base do pecíolo envolto em algodão com água destilada. Como câmara de medição utilizou-se pote de vidro padronizado (pote de alimento para bebês) acoplado à câmara climática e ao analisador de gás infra-vermelho. A temperatura foi fixada em 25°C e a intensidade de luz, fornecida por lâmpada de vapor de mercúrio, foi fixada em $650 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$. Tal determinação foi efetuada com 17 repetições e a interpretação dos resultados foi feita usando-se a análise da variância e teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. A determinação do conteúdo de clorofila foi efetuada em amostra composta de partes de folhas, por clone e por tipo de muda. Para a extração foi utilizada acetona a 85% e a determinação foi feita em espectrofotômetro de luz, medindo-se a extinção em 452,5 nm, 644 nm e 663 nm. Para o cálculo da concentração (em $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ de solução) de clorofila *a* (Ca), clorofila *b* (Cb) e caroteno (K), foram usadas as fórmulas segundo ROEBBELEN (1957):

$$\text{Ca} = 10,3 * E^{663} - 0,918 * E^{644}$$

$$\text{Cb} = 19,7 * E^{644} - 3,87 * E^{663}$$

$$\text{K} = 4,75 * E^{452,5} - ((\text{Ca} + \text{Cb}) * 0,226)$$

Os clones foram designados por A, B, C e D. O grupo de mudas de estacas foi designado por E e o grupo de micropropagadas por M. Assim, os tratamentos receberam as seguintes denominações:

Mudas de micropropagação — MA, MB, MC e MD

Mudas de estacas — EA, EB, EC e ED

RESULTADOS

Os valores médios dos parâmetros medidos e calculados estão representados no Quadro 1.

A análise global do experimento revelou existir pequenas diferenças entre os clones testados no que se refere à fotossíntese líquida. Dentro do grupo de mudas

* Trabalho apresentado no 6.º Congresso Florestal Brasileiro, realizado em Campos do Jordão — São Paulo — Brasil, de 22 a 27 de setembro de 1990.

QUADRO 1

VALORES MÉDIOS DA FOTOSÍNTESE LÍQUIDA (FL) E DOS PIGMENTOS ASSOCIADOS (CLOROFILAS A E B E CAROTENO)

| Clone | FL | Ca | Cb | K | Ctot | Ca/Cb | Ctot/K |
|-------|---------|-------|-------|------|-------|-------|--------|
| MA | 0,91 cd | 83,8 | 38,4 | 33,1 | 122,2 | 2,19 | 3,69 |
| MB | 1,14 c | 88,8 | 38,6 | 27,5 | 127,4 | 2,30 | 4,63 |
| MC | 0,99 cd | 83,2 | 35,1 | 28,9 | 118,3 | 2,37 | 4,09 |
| MD | 0,88 cd | 74,6 | 35,7 | 32,2 | 110,3 | 2,00 | 3,42 |
| EA | 3,31 a | 228,8 | 83,0 | 52,6 | 310,0 | 2,79 | 5,91 |
| EB | 2,83 b | 229,3 | 83,4 | 53,7 | 312,7 | 2,75 | 5,82 |
| EC | 3,17 ab | 297,9 | 103,5 | 65,0 | 401,4 | 2,88 | 6,18 |
| ED | 3,00 ab | 285,7 | 103,8 | 69,9 | 389,5 | 2,75 | 5,57 |

FL : Fotossíntese líquida em $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$.
(valores seguidos da mesma letra não diferem entre si ao nível de 0,05).

Ca : Clorofila *a*, em mg/m^2

Cb : Clorofila *b*, em mg/m^2

K : Caroteno, em mg/m^2

Ctot : Clorofila total (Ca + Cb)

Ca/Cb : Relação entre Clorofila *a* e Clorofila *b*

Ctot/k : Relação entre clorofila total e caroteno

estaqueadas, o clone EA apresentou valores da fotossíntese superiores aos do clone EB, não se diferenciando dos demais. No grupo das mudas micropropagadas, o clone MB superou o clone MD, não se diferenciando dos demais.

Na comparação entre os dois tipos de mudas, os valores da fotossíntese líquida das mudas estaqueadas foram significativamente superiores aos das mudas micropropagadas, demonstrando um produtividade fotossintética até 3 vezes maior.

O conteúdo de clorofila *a* nas folhas de mudas estaqueadas foi 4 vezes superior ao das folhas das micropropagadas; no caso de clorofila *b*, 3 vezes superior. A relação entre os dois tipos de clorofila manteve-se praticamente a mesma nos dois tipos de mudas. Nas estaqueadas, a relação foi ligeiramente (entre 16% e 30%) superior. O caroteno também apresentou-se em concentração 2,5 vezes superior nas estaqueadas do que nas de micropropagação. A relação entre clorofila total e caroteno manteve-se superior (entre 20% e 80%) nas estaqueadas em comparação às micropropagadas.

DISCUSSÃO

Com o advento das câmaras climatizadas (LANGE, 1962; SCHULZE et al., 1982), a determinação dos processos de troca gasosa dos vegetais tornou-se mais cômoda e precisa. Em função do tamanho da amostra a ser estudada (planta inteira ou parte) e das dimensões da câmara, o tempo requerido para cada medição pode ser bastante longo (em alguns casos, ultrapassando 60 minutos). Este fato dificulta o exame de uma quantidade grande de indivíduos por dia, porquanto o fotoperíodo de entre 8 e 10 horas deve ser levado em consideração. Assim, é desejável que o tempo de medição por amostra seja o menor possível. Não havendo um parâmetro à disposição, que permita a determinação da troca gasosa diretamente na árvore, a técnica de folhas e ramos destacados, medidos em mini-câmaras, surge como uma alternativa simples, desde que comprovada a sua eficiência.

Estudando ramos destacados de *Picea abies*, FUEHRER (1985) demonstrou que 75 minutos após o corte, a capacidade fotossintética ainda se apresentava a 91% da capacidade máxima, embora a transpiração já tivesse caído aos 30% do valor inicial.

No presente trabalho, a determinação da fotossíntese foi feita imediatamente após o corte. A estabilização da troca gasosa entre a folha destacada e o ambiente dentro da mini-câmara foi alcançada, em média, após 8 a 10 minutos. Dessa forma, foi possível o exame de até 40 amostras por dia. As folhas mais jovens demonstraram saturação da curva da fotossíntese algum tempo após a estabilização. Isso pode ter ocorrido devido à perda excessiva de água pela transpiração, pois apresentavam-se levemente murchas no final da observação. Por outro lado, as folhas de constituição mais consistentes demonstraram curva de fotossíntese estável por tempo mais longo.

A simplicidade da técnica, aliada à rapidez da estabilização da troca gasosa, permite apresentar a técnica de folhas destacadas, associada ao uso de mini-câmaras (volume entre 100 e 250 cm^3), como alternativa eficiente na determinação da troca gasosa instantânea. Para períodos mais prolongados do que os apresentados, necessita-se maiores investigações.

A possibilidade de se detectar diferenças entre clones analisando-se a produtividade fotossintética tem sido comprovada em trabalhos anteriores (INOUE & RIBEIRO, 1988; INOUE & ODA, 1988). No presente caso, as diferenças detectadas entre clones não são constantes, considerando-se o tipo de produção da muda. Isso demonstra ter havido interação entre o potencial fotossintético e a forma de produção da muda. Assim, o clone B que obteve o maior valor da fotossíntese na muda micropropagada, apresentou o menor valor quando a muda foi produzida por enraizamento de estaca. Tratando-se de um caso único e devido à quantidade pequena de clones analisados, a interação entre clone e tipo de produção de muda deve ser estudada com maior profundidade.

O estudo demonstrou que a técnica utilizada na produção de mudas pode influenciar a produtividade fotossintética dos clones estudados. A superioridade até 3 vezes maior das mudas estaqueadas em relação às micropropagadas deve ser discutida analisando-se alguns fatores em seu conjunto. Com relação à idade do material, todos os indivíduos estudados tinham a mesma idade (tendo como referência a época de entrada no viveiro). Assim, a maturidade fisiológica da parte aérea analisada pode ser considerada homogênea. As plantas micropropagadas exibiram uma coloração avermelhada das folhas, notadamente nas mais jovens. A antocianina, que pode dar a coloração avermelhada às folhas, não exerce função direta no processo fotossintético. As plantas estaqueadas tinham as suas folhas normalmente verdes.

A determinação do conteúdo de pigmentos das folhas revelou que as plantas estaqueadas concentravam maior quantidade de clorofila (*a* e *b*) e de caroteno. Segundo LOOMIS (1960), a quantidade de clorofila em folhas normalmente verdes é superior àquela necessária para o máximo de fotossíntese, quando a concentração de CO₂ no ar é normal. WEBER (1972) também concluiu que a concentração de clorofila nas folhas é normalmente elevada, ao ponto de não ser um fator limitante. HEATH (1972) por sua vez, demonstra a interação entre o conteúdo de clorofila e a intensidade de luz. Sob elevada intensidade luminosa, basta uma concentração pequena de clorofila para a absorção de quantidade suficiente a tal ponto que o aparelho fotossintético encontra-se em saturação lumínica. Somente quando a intensidade de luz é baixa, uma maior concentração de clorofila pode significar uma maior absorção de energia. O mesmo autor concluiu que mesmo sob intensidade baixa de luz, uma elevação maior do que 5 mg/dm² no conteúdo de clorofila, quase não provoca aumento na taxa de fotossíntese. Estas observações foram comprovadas por INOUE (1976) estudando mudas de *Cedrela*. Este autor determinou que a concentração média de clorofila nas folhas de cedro era de 3,5 mg/dm², ou seja, no nível em que HEATH assume uma dependência da concentração de clorofila e o potencial fotossintético sob baixa intensidade de luz.

No presente estudo, as plantas micropropagadas exibiram um conteúdo médio de 1,2 mg/dm², enquanto que as estaqueadas apresentaram valores de 3,1 a 4,0 mg/dm² de clorofila total. Ora, tais valores estão no limiar daqueles discutidos por HEATH e INOUE. A intensidade luminosa utilizada corresponde à aproximadamente 1/3 da intensidade máxima da luz do dia. Não se trata de uma intensidade baixa, mas se considerarmos a heliofilia de eucaliptos, a maior concentração de clorofila das mudas estaqueadas pode justificar a maior taxa fotossintética em relação às mudas micropropagadas.

CONCLUSÕES

Considerando as características do material estudado e as condições do experimento, as seguintes conclusões podem ser apresentadas:

1. A técnica de folhas destacadas e instaladas em recipientes de pequenas dimensões (até 250 cm³) mostrou-se eficiente para a medição instantânea da fotossíntese líquida em analisador infra-vermelho. O tempo de estabilização da troca gasosa entre a folha e o ambiente dentro do recipiente é inferior a 15 minutos.

2. A análise do potencial fotossintético serve como indicador na distinção de clones de *Eucalyptus*.

3. A técnica usada na produção de mudas, no caso, enraizamento de estacas e micropropagação, pode interferir em algum processo interno da planta, refletindo no potencial fotossintético. A fotossíntese medida em mudas estaqueadas foi até 3 vezes superior à de mudas micropropagadas.

4. O conteúdo de pigmentos do aparelho fotossintético, quando em baixas concentrações, pode interferir na taxa fotossintética. As plantas estaqueadas apresentaram concentrações maiores de clorofila, o que pode justificar a sua mais elevada produtividade fotossintética.

SUMMARY

The aim of this study was to compare the net assimilation performance between micropropagated and cuttings plants of clones of *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. The gas exchange was measured in an infra-red analyser accopled to mini-chamber with climatized air flux. The measurements were made in detached leaves under 650 μE/m²/s photosynthetic photon flux density and 25°C.

The used technique of detached leaves showed to be efficient for instantaneous gas exchange measurements. This procedure permits to analyse a high number of plants per day.

Differences between clones were detected as far as that cuttings plants showed a photosynthesis rate 3 times higher than micropropagated plants.

The chlorophyll content of leaves is used in the discussion of probably cause of the differentiated assimilation performance.

LITERATURA CITADA

- BLAKE, T.; BEVILACQUA, E. & BARBOSA, M.M.: Early selection of fast-growing *Eucalyptus* clones and species. IPEF 40:5-14, 1988.
- CAMPINHOS JR., E. & IKEMORI, Y.K.: Introdução de novas técnicas na produção de mudas de essências florestais. SILVICULTURA 8(28):226-228, 1983.
- DEWAULLE, J.C.; LAPLACE, Y. & QUILLET, G.: Produção massal de estacas enraizadas de *Eucalyptus* na República Popular do Congo. SILVICULTURA 8(32):779-781, 1983.
- FANTINI JR, M. & GRAÇA, M.E.C.: A micropropagation system for *Eucalyptus dunnii* X *Eucalyptus* sp. Ann. Sc. For. 46:136-139, 1989.
- FUEHRER, G.: Photosynthesekapazität abgeschnittener Zweigemethodische Untersuchungen zur charakterisierung der Vitalität ungeschädigter und geschädigter Fichten. Trabalho de graduação (Diplomarbeit), Univ. Würzburg, R.F.A., 1985.
- GONÇALVES, A.N.: Reversão à juvenildade e clonagem de *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake em sistemas de cultura de célula e de tecido. SILVICULTURA 8(32):786-787, 1983.
- GRAÇA, M.E.C. & MENDES, S.: Micropropagation of *Eucalyptus dunnii* Maid. Ann. Sc. For. 46:140-144, 1989.

- HARTNEY, V.J. & BARKER, P.K.: Propagação vegetativa de *Eucalyptus* através da cultura de tecidos. SILVICULTURA 8(32):791-793, 1983.
- HEATH, O.V.S.: *Physiologie der Photosynthese*. Stuttgart, Georg Theme Verlag, 1972.
- INOUE, M.T.: Wachstumsverhalten von *Cedrela odorata* L. und *C. fissilis* Vell. (Meliaceae) im Jugendstadium in Abhängigkeit von Umweltfaktoren. *Diss. de Doutorado*. Universidade de Hamburg, R.F.A., 1976.
- INOUE, M.T. & RIBEIRO, F.A.: Fotossíntese e transpiração de clones de *Eucalyptus grandis* X *E. saligna*. IPEF 40:15-20, 1988.
- INOUE, M.T. & ODA, S.: Produção fotossintética de clones micropropagados e estaqueados de híbridos de *Eucalyptus grandis* X *E. urophylla*. In: Anais do II Congresso Florestal do Paraná. Curitiba, junho de 1988, Inst. Flor. do Paraná: 597-606, 1988.
- LANGE, O.L.: Eine "Klapp-Küvette" zur CO₂-Gaswechselregistrierung an Blättern von Freilandpflanzen mit dem URAS. Ber. deutsch. bot. Ges. 75:41-50, 1962.
- LOOMIS, W.E.: Die Photosynthese der grünen Pflanzen — Historical introduction. In: Handbuch der Pflanzenphysiologie, V/1 Berlin, 1960.
- SCHULZE, E.D.; HALL, A.E.; LANGE, O.L. & WALZ, H.: A portable steady-state porometer for measuring the carbon dioxide and water vapour exchange of leaves under natural conditions. *Oecologia* 53:141-145, 1982.
- WEBER, W.: *Biologie in Stichworten. II. Botanik*. Kiel, Verlag Ferdinand Hirt, 1972.
- WIECHETECK, M.; GRAÇA, M.E.C. & ARAUJO, A.J.: Micropropagation of *Eucalyptus viminalis* Labill. Ann. Sc. For. 46:161-164, 1989.