

POLIPLOIDIA EM SERINGUEIRA: III - ESTUDO COMPARATIVO ENTRE CLONES DIPLÓIDES E NOVOS POLIPLÓIDES PUTATIVOS EM CONDIÇÕES DE JARDIM CLONAL

José Raimundo Bonadie Marques¹, Wilson Reis Monteiro¹ e Vicente H. de F. Moraes²

¹CEPLAC/Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), Caixa Postal 7, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil.

²Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Centro de pesquisa Agroflorestal da Amazônia Ocidental (EMBRAPA/CPAA), Caixa Postal 319, 69011-970, Manaus, Amazonas, Brasil.

Produção de borracha e o vigor das plantas foram avaliadas em clones putativos de *Hevea brasiliensis* (Fx 3864 pl e Fx 985 pl). A primeira delas aconteceu ainda em fase juvenil, aos 30 meses de idade de campo, empregando-se o teste HMM-modificado. Foi constatada a superioridade dos clones poliploidizados em relação aos diplóides para todas as características avaliadas. Na segunda avaliação, os clones poliploides não mantiveram o mesmo comportamento observado na primeira avaliação, mostrando-se no mesmo nível dos clones diplóides. Estes resultados, associados aos obtidos nas análises citogenéticas, evidenciam a dificuldade em obter poliplóides estáveis em seringueira, independentemente da técnica de poliploidização utilizada. Há, ainda, indícios de ocorrência de mixoploidia seguida de uma provável reversão à condição diplóide, fato este que pode ser atribuído à velocidade de multiplicação das células de tecidos com nível menor de ploidia.

Palavras-chave: *Hevea brasiliensis*, clones poliploides, poliploidia induzida, anfidiplóide natural

Polyploidy in rubber tree: III - comparative study among diploid and the new putative polyploids clones under the conditions of clonal garden. Rubber production and vigour of the plants were measured in putative clones of *Hevea brasiliensis* (Fx 3864 pl and Fx 985 pl). The first evaluation of production occurred in the juvenile phase (30 months of field age) by using the HMM-modified test. A superiority of the polyploid clones in relation to the diploids was observed for all the appraised characteristics. In the second evaluation, the polyploids did not keep the superiority observed in the first evaluation, presenting similar performance as the diploid clones. These results, associated to those of cytogenetics analysis, give evidence of the difficulty in obtaining stable poliploids in rubber trees, independently of the polyploidization technique utilised. There is, still, indications of mixoploidy occurrence followed by a probable reversion of the diploid condition, fact this that can be attributed to the speed of multiplication of the cells in the tissues with smaller level of ploidy.

Key words: *Hevea brasiliensis*, clones polyploids, induced polyploidy, natural amphidiploid

Introdução

A poliploidia induzida tem sido utilizada em seringueira [*Hevea brasiliensis* (Willd. ex. adr. de Juss.) Muell. Arg.] no sentido de desenvolver clones com maior produtividade. Esta linha de pesquisa há muito tempo já vem sendo explorada (Mendes e Mendes, 1963), dado o potencial desta técnica em aumentar o diâmetro dos tubos crivados e o número de anéis dos vasos laticíferos e a constatação de alta correlação entre estes caracteres e a produção de látex (Gunnery, 1935).

Os primeiros clones poliploidizados, série IAC, apresentaram alterações morfológicas e de ordem arquitetural que levaram à suspeita de possíveis efeitos advindos de mixoploidia (Santos et al., 1987; Marques e Monteiro, 1997). Em estudos mais recentes ficou comprovado que a mixoploidia realmente ocorreu, sendo portanto responsável pelas anomalias mencionadas (Pagliarini et al., 1992). Por essa razão, Moraes (1982) percebeu a necessidade do refinamento da técnica de indução de poliploidia inicialmente adotada, visando assim a obtenção de poliplóides normais. Com isso, novos clones comerciais de seringueira da série Fx foram poliploidizados no Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia (CPAA). Alguns exemplares desses clones estão em processo de avaliação em nível de campo e em laboratório quanto à precocidade, produção em condições de árvores adultas, qualidade da borracha, regeneração de casca, reação à doenças, entre outros.

Dando continuidade às avaliações desses poliplóides, no presente trabalho procurou-se analisar os dados de produção de borracha em duas fases de desenvolvimento dos clones (juvenil e adulta), bem como dos caracteres relacionados ao vigor, no sentido de buscar subsídios que justifiquem o prosseguimento de ações dentro desta mesma linha de pesquisa.

Materiais e Métodos

Em condições de jardim clonal foi desenvolvido um ensaio exploratório envolvendo os clones diplóides comerciais Fx 985 e Fx 3864 e aqueles obtidos por poliploidização, ou sejam, o Fx 985 pl e o Fx 3864 pl (Moraes, 1982). As plantas poliploidizadas foram propagadas vegetativamente e, posteriormente, introduzidas na coleção de germoplasma da Estação Experimental Djalma Bahia (EDJAB), Una, BA, que se localiza entre os paralelos 15°17'34" e 30°04'38", a 14 m de altura acima do mar, temperatura média anual de 23,6°, umidade relativa média anual de 84% e precipitação média anual entre 1990 a 2100 mm.

O plantio foi realizado a partir de mudas enxertadas

de raízes nuas, em linhas, no espaçamento de 1,5 m x 1,5 m entre plantas. Trinta meses após o plantio fez-se a primeira avaliação do comportamento destes materiais, considerando-se os caracteres de vigor - expresso pela circunferência do caule (CC) e espessura de casca (EC) - e produção precoce de borracha, mediante à aplicação do teste HMM-modificado (Tan & Subramanian, 1976). As médias destes caracteres foram comparadas entre diplóides e poliplóides do mesmo clone pelo teste *t*. Na segunda avaliação, iniciada seis anos após à realização do teste precoce, além da mensuração da circunferência do caule, medida a 0,80 cm do solo, essas plantas foram submetidas a sangria, no sistema ½ S, D/2, 6D/7, por um período de 15 meses.

Resultados e Discussão

Primeira Avaliação

Os resultados preliminares de avaliação (Quadro 1) mostram o comportamento dos clones em termos de produção de borracha seca. Entre os clones poliploidizados, o Fx 3864 pl apresentou, nos três ciclos do teste HMM-modificado, uma produção média de 9,88 g, superando em muito a produção do Fx 985 pl, cuja média registrada foi de 1,90 g. Estes valores representam acréscimos da ordem de 33,37 e 1,18 vezes em relação aos clones diplóides que obtiveram, respectivamente, produções de 2,62 e 1,16 g. Comparando-se os poliplóides putativos com os respectivos clones diplóides verifica-se que apenas o Fx 3864 pl mostrou-se significativamente mais produtivo. Esta mesma tendência de superioridade dos clones poliploidizados, em relação aos respectivos diplóides, foi também comprovada por outros autores, através da aplicação do miniteste de produção (Mendes, 1971; Pinheiro, Pinheiro e Conceição, 1982).

A análise dos resultados sobre a circunferência do caule e de espessura da casca (Quadro 1), mostra também que estas características foram superiores nos clones poliploidizados. Com relação aos respectivos diplóides verifica-se que houve apenas aumentos significativos em espessura de casca para o Fx 985 pl e em circunferência do caule para o Fx 3864 pl. Analisando-se os valores dos coeficientes de variação (C.V.%) dentro de clone, nota-se que os menores percentuais foram observados para os caracteres relacionados com o vigor. Por sua vez, a produção de borracha é um caráter mais influenciado por fatores ambientais, o que é comprovado pelo alto valor de CV.

Segunda Avaliação

Procurando-se conhecer um pouco mais sobre o comportamento produtivo desses clones, avaliou-se,

Quadro 1. Médias e coeficientes de variação de circunferência do caule, espessura da casca e produção de borracha seca, coletados a altura de 20 cm do solo, de clones de seringueira diplóides (d) e poliplóides (p1). EDJAB, Una, Ba. 2000.

Clones	Plantas n°	Circunferência do caule (cm)		Espessura de casca (mm)		Produção de borracha (g/planta)	
		Média	CV%	Média	CV %	Média	CV %
Fx 3864 p1	10	22,00 a	12,86	3,55 a	13,62	9,88 a	24,42
Fx 3864 d	5	18,66 b	7,10	3,16 a	13,16	2,62 b	31,47
Fx 985 p1	5	19,20 a	8,14	3,14 a	8,60	1,90 a	33,41
Fx 985 d	6	18,00 a	7,03	2,67 b	14,94	1,61 a	25,50

Obs: Na vertical, as comparações foram feitas entre diplóides e poliplóides no mesmo clone. As médias acompanhadas com mesma letra não diferem entre si pelo teste *t* a 5% .

também, a produção de látex, seguindo os mesmos critérios adotados para entrada em sangria de árvores adultas. O espaçamento reduzido (1,5 m x 1,5 m) certamente deve ter influenciado no desenvolvimento vegetativo das plantas, em razão dos efeitos de competição, conforme ficou evidenciado pelos resultados de circunferência do caule nos clones Fx 3864 p1 (35,67 cm) e Fx 985 p1 (33,71 cm), que foram medidos por ocasião da abertura dos painéis. Para fins de comparação, tomou-se os resultados de produção observados para estes mesmos clones diplóides cultivados experimental e comercialmente em diferentes condições edafo-climáticas da faixa litorânea do Estado da Bahia. Nota-se que as produções dos clones poliploidizados foram, de modo geral, inferiores às dos clones diplóides (Quadro 2). Isto se justifica pelo fato deles não representarem verdadeiros poliplóides, conforme demonstrado através de análise citogenética (Forli, Pagliarini e Marques, 1998). Além disso, há que se considerar as diferenças na densidade de plantio e os efeitos ambientais, desde que as produções foram obtidas em locais e em anos diferentes. Comportamento similar já havia sido anteriormente observado e relatado para outros clones poliploidizados (Marques e Monteiro, 1997), em que a produção na fase juvenil desses clones foi significativamente superior à dos diplóides, enquanto que na fase adulta essa tendência não foi mantida.

Considerações Gerais

As mudanças no comportamento produtivo dos clones submetidos à poliploidização podem ser cientificamente explicadas. Uma das prováveis explicações seria a ocorrência de mixoploidia nos tecidos desses clones, associado ao fato que células normais diplóides se duplicarem mais rapidamente que as outras com maior nível de ploidia. Isso justifica as produções maiores na fase

juvenil, em razão da existência de tecidos com diferentes níveis de ploidia, mas com o desenvolvimento da planta há uma prevalência dos tecidos diplóides normais. Assim essa reversão progressiva ao estado diplóide fica bem evidenciada pelas produções obtidas na fase adulta, bem como através dos estudos citogenéticos realizados por Forli, Pagliarini e Marques (1998). A outra explicação pode estar associada às sucessivas induções de brotações, por ocasião do tratamento com colchicina, que teriam provocado também formação de calos e uma reprodução acelerada de células. Esse comportamento, relatado por Bandel (1980) em árvores de sibipiruna, mostrou que esta espécie, quando podadas, davam origem à produção de calos e, conseqüentemente, a brotações poliplóides que posteriormente se revertiam à condição diplóide.

Existem evidências que mostram ser a seringueira um anfidiplóide natural com $2n=36$, resultante do

Quadro 2. Produção (g) de borracha seca de clones de seringueira poliploidizados e diploides em diferentes localidades da faixa litorânea do Estado da Bahia. 2000

Localidades	Ano de plantio	Início de sangria	Produção (g) dos clones poliploidizados				Produção (g) dos clones diploides			
			Fx 985 p1		Fx 3864		Fx 3864 d		Fx 985 d	
			Ano 1	Ano 2	Ano 1	Ano 2	Ano 1	Ano 2	Ano 1	Ano 2
EDJAB ⁽²⁾	1988	1994	5,46	5,62	19,82	19,25	-	-	-	-
EDJAB ⁽³⁾	1972	1982	-	-	-	-	10,81	21,24	24,31	26,66
Fazenda Ondulada ⁽⁴⁾	1965	1972	-	-	-	-	26,00	22,80	-	-
Fazenda 3 Pancadas ⁽⁵⁾	1956	1964	-	-	-	-	8,70	14,90	15,40	23,10
Fazenda Batalha ⁽⁶⁾	1982	1989	-	-	-	-	14,58	20,83	11,11	17,36

- (1) Nota: todas as produções foram obtidas através do sistema de sangria S/2, D/2, 6/7 D.
- (2) As produções dos anos 1 e 2 foram baseadas em nove e seis meses, respectivamente.
- (3) Fonte: Marques et al. (1988)
- (4) Fonte: Sena Gomes et al. (1983)
- (5) Fonte: Dunham et al. (1983)
- (6) Fonte: Virgens Filho et al. (1996)

cruzamento entre duas espécies afins com $n=9$ cromossomos. Cheng (1983) mostrou a ocorrência de células com $n = 9$ cromossomos o que vem suportar esta origem. Há também outros relatos publicados sobre estudos meióticos em poliplóides em que se observou células com número $2n$ de cromossomos variando de 36 a 72 (Ong, 1980; Gonçalves et al. 1983). Mais recentemente extraiu-se o DNA de alguns clones normais (diplóides) das séries SIAL e Fx e a quantidade de DNA por célula tem sido observada ser muito grande para um clone diplóide (Araújo et al., 2000; Marques et al., 2000), o que reforça a condição estável de alotetraplóides. Assim sendo, a poliploidização desses indivíduos poderia ser um procedimento contrário ao da evolução natural, pois seria muito difícil alcançar uma estabilidade genética e adaptativa.

Conclusões

O desempenho produtivo dos clones poliplóides putativos Fx 3864 p1 e Fx 985 p1 não está sendo mantido através do tempo. A princípio isto indica que a técnica de poliploidização utilizada necessita de maior refinamento para a obtenção poliplóides mais uniformes. Todavia, há também que se considerar que dada a possível natureza anfidiplóide da seringueira uma grande instabilidade genética é esperada em qualquer poliplóide induzido. Isto reforça ainda mais que a obtenção de poliploides em seringueira é muito difícil, independentemente dos procedimentos técnicos que venham ser empregados. Por outro lado, a reversão para a condição diplóide é possível, pois na análise citogenética desses clones adultos não se verificou a presença de células poliploidizadas.

Literatura Citada

ARAUJO, I. S. et al. 2000. Diversidade genética entre clones de seringueira (*Hevea brasiliensis*) das séries Fx e SIAL com base em marcadores moleculares RAPD. *Genetics and Molecular Biology* 23(3 suppl.).

BANDEL, G. 1980. Aberrações numéricas; poliploidia. In Aguiar-Perecin, M. L. R. de e Bandel, G. Textos de citologia. Piracicaba, ESALQ. Instituto de Genética. pp. 101 - 123.

CHENG, Z. H. 1983. Microscopic observation of *Hevea brasiliensis* cultures. In Cell and tissue culture techniques for annual crop improvement. s.l. Science Press. pp 47-54.

DUNHAN, R. J., SILVA, E. R. da e SANTOS, A. G. 1983. Comportamento dos clones de seringueira e novos materiais recomendados para futuros plantios na Fazenda Três Pancadas, Ituberá, Ba. In Seminário Brasileiro sobre Recomendações de Clones de Seringueira, 1º, Brasília, 1982. Anais. Brasília, EMBRAPA/DDT. pp. 65-87.

FORLI, F., PAGLIARINI, S. e MARQUES, J. R. B. 1998. Determinação do número de cromossomos em clones de seringueira (*Hevea brasiliensis*) submetidos a poliploidização. In Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência 6, Maringá. 1998. Anais. Maringá, SBPC.

GONÇALVES, P. S., VALOIS, A.C.C. and PAIVA, J. R. 1983. Induction and investigation of polyploidy in IAN 717 rubber tree clone. A preliminary study. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 18:789-796.

GUNNERY, H. 1935. Yield prediction in *Hevea*, a study of sieve tube structure in relation to latex yield. *Journal of the Rubber Research Institute of Malaysia*. 6:8-20.

MARQUES, J. R. M. et al. 1988. Informações preliminares sobre germoplasma de seringueira (*Hevea* spp) na Estação Experimental Djalma Bahia. Ilhéus. CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico nº 157. 24p.

MARQUES, J. R. B. et al. 2000. Caracterização fenotípica e molecular do clone SIAL 893 de seringueira (*Hevea brasiliensis*) recomendado para o cultivo no Estado da Bahia. *Genetics and Molecular Biology* 23 (3suppl.): 520-521.

MARQUES, J. R. B. e MONTEIRO, W. R. 1997. Poliploidia em seringueira. II Avaliação do comportamento dos poliplóides putativos IAC 206 e IAC 232. *Agrotrópica (Brasil)* 9(2):75- 82.

MENDES, L. O. T., MENDES, A. J. T. 1963. Poliploidia artificial em seringueira. *Bragantia (Brasil)* 22(3):383-392.

MENDES, L. O. T. 1971. Poliploidização da seringueira: um novo teste para determinação da capacidade de produção de seringueiras jovens. *Polímeros (Brasil)* 1:22-30.

MORAES, V. H. F. 1982. Organogênese em meristema apical do caule da seringueira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 17(6):893-897.

ONG, S.H. 1980. Mutation and polyploid. In Rubber Research Institute of Malaysia. Hevea Breeding Course, lecture notes 1980. Kuala Lumpur, Malaysia. pp. 271-276.

PAGLIARINI, M. S. et al. 1992. Poliploidia em seringueira. I. Análise do comportamento meiótico de alguns clones de *Hevea brasiliensis*. *Revista UNIMAR (Brasil)* 14(2):25-35.

PINHEIRO, F. S. V., PINHEIRO, E. e CONCEIÇÃO H. E. da. 1982. Avaliação de clones poliplóides de seringueira (*Hevea sp.*) da série IAC. In Seminário Nacional da Seringueira, 3, 1980, Manaus. Anais Brasília, SUDHEVEA. v.1. pp. 349-364.

SANTOS, P. M. et al. 1987. Desempenho de clones diplóides e poliplóides de seringueira (*Hevea* spp.) no Sul da Bahia. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico nº 154. pp.1-13.

SENA GOMES, A. R. et al. 1983. Avaliação de clones de seringueira (*Hevea sp.*) no Sul da Bahia. In Anais do Seminário Brasileiro sobre Recomendações de clones de seringueira, 1º, Brasília, 1982. Anais. Brasília, EMBRAPA/DDT. pp. 139-58.

TAN, H. and SUBRAMANIAN, S. 1978. A five parent diallel cross analysis for certain characters of young *Hevea* seedlings. In International Rubber Conference, Kuala Lumpur, 1975. Proceedings. Kuala Lumpur RRIM. v. 2. pp. 13-16.

VIRGENS FILHO, A. de C., SANTOS, C. I. dos e SANTOS, C. A. dos. 1996. Relatório do projeto Técnicas de Sangria. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC. 1v.