

CONSERVAÇÃO DO PÓLEM DE DIVERSAS ESPÉCIES DE *Eucalyptus* PARA FINS DE CRUZAMENTO (1)

A. C. GABRIELLI (2), R. A. CUNHA (3) e V. MAULE (4)

INTRODUÇÃO

A conservação de pólem de orquideas por meses e mesmo anos, é fato corriqueiro nos laboratórios de Biologia Geral desta Faculdade. Resolvemos testar os mesmos métodos com pólem de *Eucalyptus* dada a importância econômica ou científica que poderiam ter alguns de seus híbridos.

A única publicação que achamos sobre o assunto foi a de R. W. BODEN (1958) que, todavia, trabalhou com espécies diferentes das nossas, e, também com alguns resultados diferentes. São os seguintes os resultados de BODEN :

a) Os testes de germinação dos grãos de pólem foram fei-

-
- (1) Este trabalho foi feito com fundos do United States Department of Agriculture (Public Law 480). Agradecemos a orientação do Dr. Warwick Estevam Kerr, que nos sugeriu o problema, e ao Dr. Armando Navarro Sampáio, por permitir sua realização no Centro de Pesquisas, Ensino e Treinamento Florestal.
 - (2) Bolsista do C.N.Pq., trabalhando junto aos Laboratórios de Biologia Geral da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de R. Claro. Enderêço atual: Universidade de Brasília
 - (3) Bolsista do U.S.D.A., Public Law 480. Enderêço atual: Universidade do Chile, Santiago do Chile.
 - (4) Participou do trabalho em 1961, quando aluna da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Rio Claro. Enderêço atual: Assistente dos Laboratórios de Zoologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Rio Claro, Rio Claro, S. P.

tos com gelatina e sacarose, numa lâmina, colocada em câmara úmida. A concentração de gelatina usada por BODEN foi de 1,5% e não encontrou diferenças de germinação entre uma concentração de sacarose de 10 a 20%, a não ser no **E. pulverulenta**, em que os resultados melhores foram com 30% de sacarose.

b) BODEN coletou pólen somente de flores cujo opérculo estava começando a se destacar.

c) BODEN achou que a melhor temperatura para germinação era de 20° a 30° C., havendo declínio de germinação em temperaturas superiores a 35°C..

d) BODEN verificou que a germinação de **E. viminalis** melhorava sensivelmente após um período, mesmo pequeno (6 horas), de dessecação.

e) Verificou que certas espécies tinham alta variabilidade na sua capacidade de fazer o pólen germinar, como por exemplo: **E. maculosa**, **E. pulverulenta**, **E. bicostata**, **E. blakelyi**, que produziam desde plantas em que o pólen não germinava, até plantas em que germinava 75%.

f) Para conservação, BODEN usou a técnica de manter o pólen em temperaturas de 16°C., 2°C. e ambiente. Testou para isso, mensalmente, pólen de **E. maculosa**. Após um mês não havia mais germinação do pólen conservado à temperatura ambiente. No pólen conservado a 2°C observou perda de viabilidade após 3 meses, sendo que no 6.º mês havia muito poucos grãos capazes de germinação. O pólen conservado a — 16°C tinha aos 7 meses, uma viabilidade de 60%.

g) BODEN verificou que o pólen guardado, de 7 meses, de **E. maculosa** era geneticamente fértil, polinizando **E. cinerea** e obtendo os híbridos F1.

h) BODEN guardou pólen junto com as anteras, porém declara que obteve melhores resultados quando o pólen é separado das anteras após um pequeno período de secamento.

i) Para coleta de flôres no campo BODEN diz ser suficiente colocar a ponta cortada do galho em água. Diz mais, que se as flôres forem embrulhadas em polietileno, a perda de fertilidade é quase total.

j) PRYOR (1954), usando pólem guardado, obteve cruzamentos de *E. robusta* com *E. cinerea*, o que mostrou a deficiência do atual sistema de classificação.

Devido à falta de dados para as espécies de *Eucalyptus* cultivadas no Brasil, resolvemos refazer aqui o trabalho de BODEN, para as espécies mais comuns no Estado de S. Paulo.

CONCENTRAÇÃO DO MEIO

Não conseguimos boa germinação com soluções de sacarose a 10%, e portanto, o primeiro passo foi determinar a concentração ideal de sacarose para a boa germinação do pólem. Para isso, fizemos soluções cujas concentrações em sacarose variavam de 5 a 50%. Para cada concentração, fizemos uma solução com água destilada e outra com água de torneira, mas não encontramos diferenças entre estes dois tratamentos.

Os resultados dos testes feitos para determinar a melhor concentração de sacarose para *Eucalyptus alba*, são apresentados na tabela I. Verifica-se que a melhor concentração foi de 30 e 40%. O mesmo foi feito com as demais espécies.

Tabela I — Determinação da concentração ideal de sacarose para germinação de grão de pólem de *Eucalyptus alba*.

| % de sacarose na solução | % de germinação |
|--------------------------|-----------------|
| 5 | 0 |
| 10 | 5 |
| 15 | 15 |
| 20 | 30 |
| 25 | 40 |
| 30 | 85 |
| 40 | 77 |
| 50 | 60 |

Assim, estandardizamos nosso meio de germinação com a seguinte fórmula: 1,5% de gelatina e, dependendo da espécie,

30 ou 40% de sacarose, pois verificamos que para certas espécies obtinhamos melhores resultados com uma ou outra concentração, conforme pode ser visto pela tabela II.

Tabela II — Concentração ótima de sacarose para germinação de pólem de diversas espécies de *Eucalyptus*.

| Espécie | % de sacarose |
|---|---------------|
| <i>E. fiscifolia</i> var. <i>carmina</i> | 30 |
| <i>E. grandis</i> | 30 |
| <i>E. citriodora</i> | 30 |
| <i>E. longifolia</i> var. <i>multiflora</i> | 30 |
| <i>E. robusta</i> | 30 |
| <i>E. paniculata</i> | 30 |
| <i>E. alba</i> | 40 |
| <i>E. fiscifolia</i> var. <i>alba</i> | 40 |
| <i>E. maculata</i> | 40 |
| <i>E. shiressi</i> | 40 |
| <i>E. microcoris</i> | 40 |
| <i>E. trabuti</i> | 40 |

Encontramos, como BODEN, muitas variações, e pela tabela II é fácil verificar as diferenças obtidas para mutantes diferentes de *E. fiscifolia*.

CONSERVAÇÃO DO PÓLEM

De início, os botões florais eram coletados e conservados em dessecadores à temperatura ambiente ou a 4°C feitas para verificar qual produziria resultados mais satisfatórios.

Os resultados apresentados na tabela III, mostram que 4°C é temperatura muito melhor que a ambiente para a conservação do pólem. Tal temperatura, além de promover melhor conservação, facultou-nos também o uso de refrigeradores comuns.

Tabela III — Germinação de grãos de pólem em dessecadores mantidos em refrigeradores ou à temperatura ambiente

| Espécie | Conser- vação (dias) | Porcentagem de ger- minação do pólem | |
|-----------------------------------|----------------------------|---|---------------------------|
| | | dessecador à temperatu- ra ambiente | desseca- dor à 4° C |
| E. alba | 114 | 95.3 | 97.2 |
| E. fiscifolia var. alba | 107 | 79,0 | 90,9 |
| E. fiscifolia var. carmina | 32 | 77.4 | 91.4 |
| E. citriodora | 36 | 81.8 | 97.8 |
| E. grandis | 70 | 82.2 | 97.1 |
| E. maculata | 56 | 70.9 | 90.0 |

Tendo sido evidenciada a possibilidade da conservação do pólem em laboratório em refrigerador tipo caseiro, introduzimos uma modificação no método no que diz respeito à coleta do material. Passamos a conservar o pólem do botão floral, coletado com o auxílio de uma série de peneiras, em tubos de ensaio dentro do dessecador a 4°C.

Ao retirar o dessecador da geladeira, tomávamos sempre o cuidado de esperar algum tempo antes de realizar os testes de germinação, a fim de evitar condensação de água sobre o grão de pólem, precaução essa que foi comunicada ao Professor KERR pelo Dr. OLMO, da Universidade da Califórnia, e que é essencial à boa conservação de pólem de videira.

Para a realização dos testes de germinação, pequenas quantidades de pólem eram colocadas sobre lâminas dentro de uma câmara úmida, para que o pólem recuperasse a umidade perdida durante o período de dessecação. Após um intervalo de aproximadamente 10 minutos, o pólem recebia algumas gotas da solução de gelatina com sacarose. Depois de um intervalo de aproximadamente 20 horas, as lâminas eram levadas ao microscópio, e contados os grãos de pólem germinados e não germinados, em diferentes campos focalizados ao acaso.

Pelos resultados apresentados na tabela IV, podemos verificar a possibilidade da conservação de pólem de **Eucalyptus** em laboratório por longo tempo, pelo menos o suficiente para que seja possível qualquer espécie de cruzamento.

Tabela IV — Resultados dos últimos testes para a determinação da porcentagem de germinação de grãos de pólem de diversas espécies de **Eucalyptus**

| ESPÉCIE | Conservação (Dias) | % de Germinação |
|---------------------------------|--------------------|-----------------|
| E. alba | 30 | 63.24 |
| E. citriodora (planta 1) | 107 | 71.69 |
| E. citriodora (planta 2) | 30 | 73.00 |
| E. grandis | 565 | 35.88 |
| E. microcoris | 386 | 10.00 |
| E. paniculata | 380 | 51.21 |
| E. robusta (planta 1) | 370 | 63.43 |
| E. robusta (planta 2) | 200 | 85.70 |
| E. shiressi | 330 | 53.33 |
| E. trachyphloia | 174 | 78.80 |
| E. trabuti (planta 1) | 375 | 24.27 |
| E. trabuti (planta 2) | 284 | 25.00 |
| E. triantha | 375 | 19.73 |

DISCUSSÃO

Podemos facilmente concluir que o número de possíveis combinações para obtenção de híbridos, é grandemente aumentado pelo uso de pólem conservado em laboratório.

O polém em estoque, além de possibilitar a obtenção de híbridos entre as espécies que florescem em épocas diferentes do ano, como por exemplo **E. alba** (janeiro a março), **E. umbra** (julho), **E. paniculata** (maio a agosto), **E. triantha** (outubro a novembro), torna possível o cruzamento de muitas espécies que florescem ao mesmo tempo cada ano, e que no entanto possuem um curto período de floração, como por exemplo **E. alba** (janeiro a março), **E. grandis** (fevereiro a março), **E. dawsoni** (julho a agosto), **E. umbra** (julho), e outras, o que talvez venha a constituir uma barreira para o cruzamento destas espécies.

BODEN verificou que soluções com 20% de sacarose são ideais para a germinação de pólem das espécies por ele estudadas. Para as espécies com que trabalhamos, verificamos que as melhores concentrações de sacarose variam entre 30 % e 40%, como podemos verificar pela tabela II.

Segundo BODEN a temperatura ideal para a germinação do pólem das espécies por êle estudadas é de 20°C. Nossos testes foram sempre realizados à temperatura ambiente, portanto entre 20°C e 30°C.

SUMÁRIO

Obtivemos a melhor germinação do pólem de **Eucalyptus**, usando uma solução contendo 1,5% de gelatina e, dependendo da espécie, 30 ou 40% de sacarose.

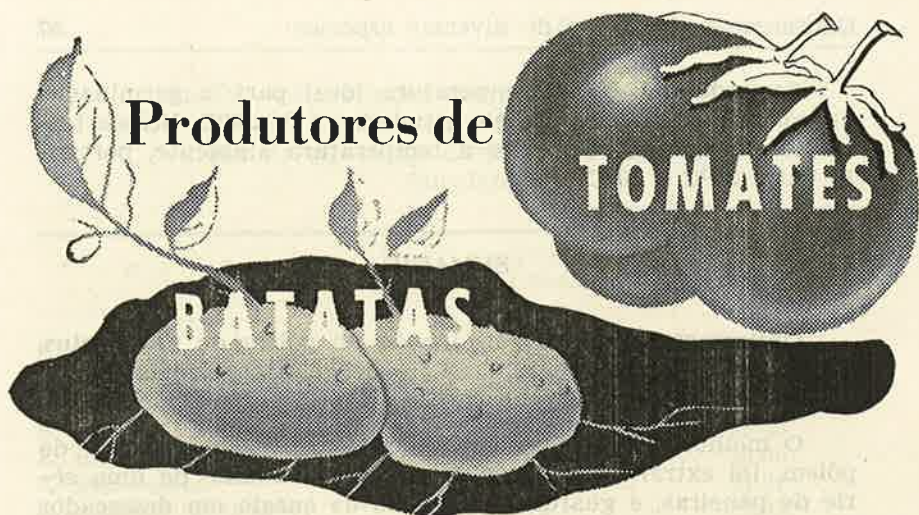
O melhor meio que encontramos para a conservação do pólem, foi extraí-lo do botão floral com o auxílio de uma série de peneiras, e guarda-lo em tubo de ensaio em dessecador a 4°C. Os resultados acham-se nas tabelas III e IV.

ABSTRACT

The best germination for **Eucalyptus** pollen was obtained by using 1,5% gelatin in water solution and, according to the species, 30 to 40% of sucrose. Pollen samples were taken from flowers by mean of a kit of sieves and kept in dissector at 4°C. Results may be seen in tables III and IV.

REFERÊNCIAS

BODEN, R. W., 1958 — Handling and storage of pollen in **Eucalyptus** breeding. **Australian Forestry**, 12 (2): 73-81.



Protejam
suas culturas com o **COBRE-SANDOZ**

Graças à excepcional tenacidade e resistência à chuva, os tratamentos com COBRE-SANDOZ permitem um espaçamento de 8 a 10 dias, o que significa menos material e mão de obra, proporcionando maiores lucros.



o tradicional
qualidade suíça
o serviço
da agricultura
do Brasil

ESTABILIDADE
MOLHABILIDADE
DISTRIBUIÇÃO UNIFORME
PERFEITA ADERÊNCIA
FACILIDADE DE PREPARAÇÃO
ALTA CONCENTRAÇÃO
ECONOMIA-SEGURANÇA
CIENTIFICAMENTE DOSADO
PARA O CLIMA DO BRASIL

fabricado pela **SANDOZ A. G. — Basel, Suíça**

Representantes exclusivos para o Brasil

SANDOZ BRASIL S. A.

Dep. Agro-Químico — Rua Barão de Campinas, 355 — C.P. 4419 — Tel.: 51-2164 — S. Paulo — Brasil