

Projeto iPLANT

**“Inovação na identificação e produção de plantas melhoradas de eucalipto
para enfrentar desafios atuais”**

Deliverable 2.1.

Indivíduos elite da Altri Florestal e RAIZ em termos de produtividade, diversidade, tolerância à geada, propriedades da madeira e tolerância à secura.

30 de Setembro 2021

Índice

Introdução	1
1- Resistência ao frio.....	2
2- Resistência à secura.....	5
3- Aptidão para o crescimento e sobrevivência	8
4- Diversidade genética	10
5- Fitossanidade do clone H.588.124.....	13
6- Caracterização tecnológica da madeira.....	14
7- Conclusões.....	17
7- Bibliografia.....	20

Introdução

O Projecto i-PLANT visa a identificação de clones com potencial de elevado desempenho em campo, reduzindo as limitações ambientais nomeadamente as relativas ao frio e secura, apresentando ainda conformidade com o processo tecnológico de produção de pasta. Desejavelmente todos estes aspectos devem estar presentes nos clones de produção o que torna bastante difícil o trabalho de melhoramento e consequente desenvolvimento operacional de um clone.

Outro aspecto muito importante a que o projeto dá muito relevo é o desenvolvimento de metodologias de multiplicação vegetativa e produção de plantas mais eficientes, que possam a médio prazo tornar-se rotinas nos viveiros. Ora estes trabalhos deverão ser realizados sobre materiais de elevado valor genético que sobressairão ao longo deste relatório.

A actividade 2 do projecto iPLANT (Tarefas 2.1/2.2/2.3) tem como objectivo identificar, no conjunto de genótipos estudados, os que melhor incorporam, em simultâneo, as diferentes perspectivas abarcadas no projeto, tais como a tolerância ao frio e ao stress hídrico, o crescimento em campo e a qualidade da madeira produzida assim como a diversidade genética. Desta forma, estes materiais poderão ser multiplicados em viveiro e formar florestas de elevada produtividade e de resiliência a factores diversos de stress promovidos em parte, também, pela sua diversidade.

1- Resistência ao frio

O eucalipto é uma espécie sensível à geada, nomeadamente às que ocorrem fora de época, quando as plantas não estão aclimatadas. No contexto atual de alterações climáticas, prevê-se um aumento de eventos súbitos de geadas, aumentando o risco de perdas de produtividade e vigor nas plantações, podendo em casos extremos causar mortalidade nos primeiros anos de plantação – maior sensibilidade nas plantas jovens (Leslie et al., 2014).

Foram selecionados e disponibilizados para testes de frio pela ALTRI e RAIZ, plantas em condições de viveiro e relativas a 20 clones *E. globulus*, 10 clones híbridos e 2 lotes de espécies puras (*E. benthamii* e *E. nitens*), estes últimos integrados no teste como controlo pois são espécies que reconhecidamente costumam ter maior tolerância ao frio que a *E. globulus*. As plantas de viveiro foram disponibilizadas a 7 de maio de 2019 e os testes realizados entre maio e junho, possuindo os materiais idades a variar entre os 6 a 18 meses no momento dos testes de frio.

Previvamente foram recolhidas amostras foliares para análise genética de forma a garantir que todos os ramegos usados correspondiam ao mesmo clone. Num total de 360 amostras identificaram-se 11 contaminantes, resultando numa taxa de contaminação de 3%. Os contaminantes foram removidos dos resultados dos ensaios de frio, ou realocados para o clone correto sempre que positivamente identificado qual o clone contaminante. No caso dos materiais de campo não foi aplicada esta metodologia de certificação dos ramegos.

Foi avaliada a tolerância ao frio (TL_{50} - temperatura que causa 50% de mortalidade das plantas) através do método da condutividade elétrica do exsudado de discos foliares (Costa E Silva et al., 2009) tendo-se definido 6 ramegos como amostra representativa de cada clone. Relativamente ao material de campo foram também colhidas amostras de ramos, de 8 dos clones em estudo (5 ramegos/clone), para comparação com os resultados das plantas de viveiro. Foram destacados discos de 1 cm de diâmetro em folhas totalmente expandidas, e submetidos a baixas temperaturas e determinada a TL_{50} .

Resultados

Os resultados são apresentados em conjunto na Tabela 1 que ordena de forma decrescente para tolerância ao frio os materiais de ambas as Empresas incluindo os dois materiais padrão, assinalando a cor amarela os de melhor resultado, a azul os de resultado intermédio e a verde os com pior tolerância ao frio.

Tabela 1. Estimativa da TL50 (TL50v -em plantas de viveiro) (°C) dos clones, ordenados por ordem decrescente de tolerância, incluindo a referência quanto à resistência ao frio (*E. nitens* e *E. benthamii*).

EMPRESA	Espécie	CLONE	TL50
controlo	<i>E. nitens</i>	<i>E. nitens</i>	-4,4
controlo	<i>E. benthamii</i>	<i>E. benthamii</i>	-4,3
ALTRI	<i>E. globulus</i>	AC58	-4,2
ALTRI	<i>E. globulus x E. bicostata</i>	GB2	-4,0
RAIZ	<i>E. nitens x E. globulus</i>	H77105	-3,9
RAIZ	<i>E. grandis x E. globulus</i>	77000	-3,7
RAIZ	<i>E. globulus</i>	SADO	-3,7
RAIZ	<i>E. globulus</i>	HD161	-3,6
RAIZ	<i>E. globulus</i>	G74	-3,5
RAIZ	(<i>E. dalrympleana</i> x <i>E. globulus</i>) x <i>E. globulus</i>	H2122083	-3,5
ALTRI	<i>E. cypellocarpa x E. globulus</i>	YG15	-3,4
ALTRI	<i>E. globulus</i>	IA202	-3,2
RAIZ	<i>E. globulus</i>	G09	-3,2
ALTRI	<i>E. globulus</i>	VR219	-3,1
ALTRI	<i>E. globulus</i>	GM2-58	-3,0
RAIZ	<i>E. globulus</i>	G1202	-3,0
RAIZ	<i>E. globulus</i>	GOES	-3,0
ALTRI	<i>E. globulus</i>	BC422	-2,9
ALTRI	<i>E. globulus</i>	MB43	-2,9
ALTRI	<i>E. maidenii x E. globulus</i>	MG1	-2,8
ALTRI	<i>E. globulus</i>	RP2	-2,8
RAIZ	(<i>E. dalrympleana</i> x <i>E. globulus</i>) x <i>E. globulus</i>	H2122097	-2,8
RAIZ	<i>E. saligna x E. rufida</i>	H1205	-2,7
RAIZ	<i>E. urophylla x E. maidenii</i>	BARÃO	-2,7
RAIZ	<i>E. globulus</i>	G1204	-2,7
ALTRI	<i>E. globulus (?)</i>	NA1C	-2,7
ALTRI	<i>E. globulus</i>	CAM-3	-2,6
RAIZ	<i>E. globulus</i>	ESTRELA	-2,6
RAIZ	<i>E. globulus</i>	G830025	-2,6
ALTRI	<i>E. globulus</i>	IA57	-2,6
ALTRI	<i>E. maidenii x E. globulus</i>	MG3	-2,4
ALTRI	<i>E. globulus</i>	AR2-46	-2,2

Confirma-se que os materiais de referência (*E. benthamii* e *E. nitens*) mostraram ser os mais tolerantes ao frio (próximos de -4,5 °C). Relativamente aos outros mais tolerantes ao frio surge em primeiro lugar, com alguma surpresa, o clone AC58 (*E. globulus* puro), secundado por três híbridos: o GB2 (de *E. bicostata*), H77105 (de *E. nitens*) e 77000 (de *E. grandis*), os três indicando possível contributo da espécie não *E. globulus* para este desempenho. Ainda com uma resposta interessante surgem clones *E. globulus* puros SADO, HD161 e G74 e, depois, novamente dois híbridos de *E. dalrympleana* e de *E. cypellocarpa*. A maioria dos clones *E. globulus* (e outros híbridos também) dispersaram-se entre valores de -3,2 e -2,6 °C. A avaliação da tolerância ao frio de alguns destes mesmos clones mas **instalados em condições de campo** (TL50c) foi também realizada através de três testes onde se atingiram temperatura de -1,8, -2,9 e -4,5 °C.

Na Figura 1 surgem estes resultados (TL50c) em paralelo com indicação dos registos médios obtidos para plantas em viveiro (TL50v), atrás referido, podendo-se assim comparar os resultados segundo as duas origens amostradas (campo e viveiro).

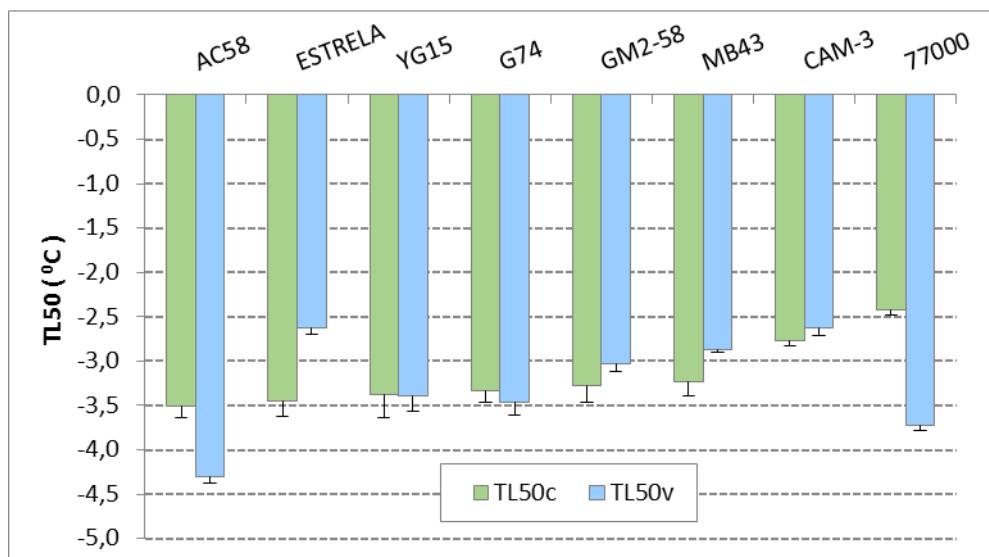


Figura 1. TL₅₀ para alguns clones, simultaneamente testados em plantas no campo (TL_{50c}) e em plantas em viveiro (TL_{50v}).

O clone AC58 foi o que mostrou maior tolerância (TL_{50c} = -3,5 °C), próximo do que ocorreu nas plantas de viveiro, contrariamente ao ocorrido ao 77000 que mostrou uma grande diferença entre o campo e o viveiro com TL_{50c} de -2,4 °C. Também no caso do ESTRELA se verificou uma discrepança considerável, ao demonstrar maior tolerância nas condições de

campo que as estimadas em plantas de viveiro. Para os restantes cinco clones encontrou-se uma semelhança de resultados entre viveiro e campo.

Contudo, e de forma geral, não foi possível associar uma maior tolerância ao frio a uma condição ambiental em específico, sendo que alguns clones mostraram ser mais sensíveis no campo, e outros na condição de viveiro, sem aclimatação.

2- Resistência à secura

Foram realizados ensaios em campo e em estufa, em simultâneo a 8 clones (G74, G205, 77000, AC58, CAM3, GM258, MB43, YG15), havendo mais dois que só estiveram presentes em campo (H.588.124 e PL139) e outros dois somente em estufa (G1202 e BARÃO). Em ambas as condições avaliaram-se parâmetros relevantes para detecção de diferentes graus de resistência das plantas ao stress hídrico.

No **dispositivo de campo**, onde uma repetição tinha sofrido rega desde a sua instalação em oposição à outra dita de sequeiro, foram avaliados o potencial hídrico foliar na madrugada e ao meio-dia, a radiação fotossinteticamente activa, a condutância hidráulica máxima específica e a eficiência de uso da água. Foi ainda feita a avaliação dendrométrica das árvores.

Em **estufa** as plantas foram envasadas e as do grupo controlo foram regadas à capacidade de campo, 3 vezes por semana, enquanto as restantes sofreram redução de rega, a uma taxa de 50-75% dos valores de transpiração que foram sendo periodicamente estimados. Fez-se a caracterização morfológica inicial dos clones em termos de biomassa e respectivas partições nomeadamente sobre a fracção radicular e avaliou-se a taxa de crescimento ao longo do ensaio. Monitorizou-se a dinâmica de abcisão foliar e foram estimadas as taxas de transpiração E ($\text{g H}_2\text{O}/\text{h}$) e evaporação do solo e a da eficiência de uso de água EUA (g/L), assim como o potencial hídrico de madrugada. A taxa fotossintética e a condutividade hidráulica máxima específica foram também calculadas.

Estes estudos estão pormenorizadamente descritos em relatório elaborado pelo Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV), sendo que neste ponto se pretende fazer uma interpretação integrada dos parâmetros avaliados e, tanto quanto possível, definir um ranking dos diferentes clones quanto à sua capacidade de resistência ao stress hídrico.

Resultados

Foram realçadas, em relatório específico, importantes limitações de delineamento, quer no ensaio de campo quer no ensaio de estufa, e como elas dificultaram o rigor da aplicabilidade dos parâmetros estimados e da utilização dos seus resultados com vista à ordenação dos materiais. Na realidade, mesmo que essas limitações não existissem, a ordenação final teria sempre que resultar de uma interpretação cruzada dos vários parâmetros e dos dois ensaios realizados, resultando num exercício difícil.

Tabela 2. Hierarquização dos clones segundo um índice de resistência à secura (IRS, %), baseado nas suas respostas percentuais de estado hídrico, acréscimo em volume em julho-agosto de 2020 e crescimento em volume total no ensaio de campo.

CLONE	Percentagem			IRS (%)
	Estado hídrico	Acrésc. Volume (jul-Ago 2020)	Acrés. Volume total	
H.588.124	100	100	88	98
PL139	81	14	71	52
77000	71	2	100	49
YG15	61	22	59	45
CAM3	69	0	77	43
AC58	72	0	69	43
GM2-58	40	10	83	37
G74	54	0	71	36
MB43	40	0	66	29
ESTRELA	44	0	56	29

A opção a que se recorreu foi a de criação de um índice de resistência à secura (IRS%) baseado nos parâmetros “potencial hídrico” de madrugada, “acréscimo em volume” nos meses de julho/agosto e “volume total” final, para o ensaios de campo, e expresso na Tabela 2. A cada variável atribuiu-se (relatório INIAV) uma ponderação de acordo com a sua contribuição potencial para a resistência à secura (40% para o estado hídrico e acréscimo em volume e 20% para o volume total). O agrupamento por cores, tal como atrás no estudo do frio, identifica clones com resultados equivalentes (dos mais tolerantes aos mais sensíveis). Torna-se evidente que o clone H.588.124 se distingue superiormente dos restantes, existindo quatro clones de inferior desempenho (ESTRELA, MB43, G74 e GM258), sendo os cinco restantes intermédios.

No que se refere ao ensaio em estufa, também se decidiu criar um índice de resistência à secura (IRS%) mas agora elaborado com base nos parâmetros “potencial hídrico foliar”, dinâmica de “abcisão foliar” ao dia 27 do ensaio, “taxa de crescimento relativo” e “acréscimo em biomassa radicular”, e expresso na Tabela 3. Atribuiu-se uma ponderação de 25% a cada variável de acordo com a sua contribuição potencial para a resistência à secura (relatório INIAV).

Tabela 3. Hierarquização de 7 dos 10 clones segundo um índice de resistência à secura (IRS, %), baseado nas suas respostas percentuais de potencial hídrico foliar, dinâmica de abcisão foliar, taxa de crescimento relativo e acréscimo percentual em biomassa radicular em relação à biomassa total no fim do ensaio de estufa.

CLONE	Percentagem				IRS (%)
	Estado hídrico (dia 15)	Dinâmica abcs. foliar (dia 27)	Taxa cresc. relativo	Acrés. Percentual biom. Radicular	
G1202	100	100	69	67	84
MB43	93	69	100	6	67
GM2-58	82	70	13	100	66
CAM3	76	53	64	55	62
AC58	83	56	21	54	54
G74	83	27	86	9	51
ESTRELA	84	84	23	0	48

A Tabela 3 identifica claramente o clone G1202 dos restantes, agrupando os clones AC58, G74 e ESTRELA como os de inferior resistência (neste caso repetindo novamente os dois últimos como tinha acontecido no ensaio de campo). Os restantes três clones MB43, GM258 e CAM3 ficaram classificados como intermédios.

Os três clones híbridos não integraram este índice pois a sua maior dimensão em vaso impedia a comparação devendo dizer-se que o BARÃO não pareceu durante o período do ensaio aumentar a biomassa radicular o que pode ser um aspecto negativo perante situações de limitação hídrica. Contudo, em conjunto com o 77000 mostrou maior eficiência do uso da água. Quanto ao YG15, ele apresentou menor taxa de crescimento relativo o que também pode indicar baixo desempenho naquelas condições.

3- Aptidão para o crescimento e sobrevivência

Relativamente ao crescimento e sobrevivência, foi realizado no início do projecto um estudo onde se avaliaram, de uma única conjunta, 340.988 registos para sobrevivência (e a maioria também com informação de altura e diâmetro), relativos a 207.291 indivíduos de ambos os parceiros (ALTRI e RAIZ), localizados num total de 283 ensaios, que se distribuíam de forma dispersa por todo o País.

O método estatístico adoptado para estimar o mérito genético das árvores nesta população designa-se por BLUP, de *Best Linear Unbiased Prediction*. A análise BLUP é considerada a melhor estratégia de estimativa de mérito genético em populações de pedigree complexo, tendo esta designação BLUP porque as estimativas que produz (designadas por $BLUP(u)=\hat{u}$) são as melhores (*Best*), no sentido que minimizam a sua variância, são lineares (*Linear*) no sentido em que são funções lineares das medições, e são centradas (*Unbiased*) no sentido em que a sua esperança $E[BLUP(u)]$ é igual ao valor verdadeiro embora desconhecido do que se quer estimar (e que designamos por u), como explicitado em relatório anteriormente produzido.

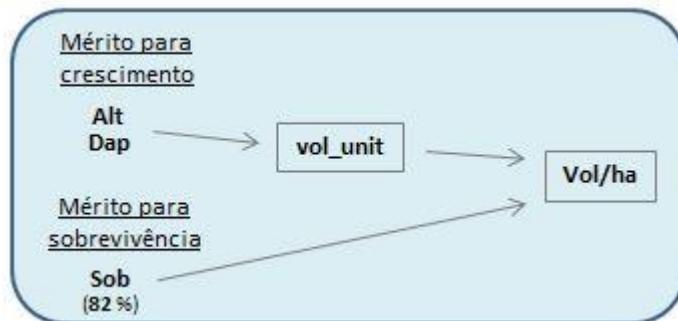


Figura 2. Esquema da transformação dos méritos genéticos (dados em desvios padrão, e posteriormente transformados em percentagem) nos índices de seleção volume individual e volume/ha (percentagem).

Esta análise foi realizada em três fases, nas quais se determinaram os méritos genéticos de cada indivíduo para as variáveis **altura**, **diâmetro** e **sobrevivência**. Os méritos produzidos nas duas primeiras análises permitem, por integração numa equação apropriada derivada da relações existentes entre eles, estimar o mérito genético para volume unitário.

O terceiro mérito (sobrevivência), foi estimado com recurso a uma sub-população de ensaios (somente os que se encontravam em regiões de moderado a elevado stress hídrico). Este mérito foi multiplicado pelo anterior índice volumétrico permitindo encontrar um outro

índice de seleção e que é a produção em volume (Volume/ha). A Figura 2 esquematiza este processo de análise.

No final do processo são obtidos índices que expressam o ganho genético para volume individual, para sobrevivência e para volume/hectare de cada indivíduo do programa de melhoramento e na base dos quais se podem fazer as melhores escolhas de materiais, complementadas com outro tipo de informação, nomeadamente os aspectos de resistência ao frio e secura que se estudam neste projecto e outros como sejam susceptibilidade a pragas e doenças.

Resultados

A análise que foi realizada identificou populações que exigem tempos distintos para serem operacionalizadas. Um dos grupos, por estar melhor representado em ensaios e até ter testes de enraizamento positivos podem vir a ser multiplicados a curto prazo; outro grupo, apesar de mais promissor porque possui maiores ganhos, só poderá ser operacionalizado após reforço dos testes de campo e realização de testes de enraizamento. O seu desenvolvimento e impacto positivo na florestação dos Países demorará mais tempo.

A Tabela 4 indica, para os indivíduos estudados nos testes de frio e/ou secura e para outros em que isso não aconteceu mas que se afiguram relevantes, qual o mérito para volume individual (isto é, o volume da árvore média desse clone relativamente à árvore padrão, em percentagem), para sobrevivência em relação a um valor médio de 82% (o valor médio dos ensaios usados na análise para esta variável) e finalmente o mérito para volume/ha resultante da multiplicação directa dos dois anteriores.

Constata-se que os 17 clones apresentados, a maioria estudados para o frio e/ou secura, mostram crescimentos em termos da árvore individual (vol) de cerca de 38%. Quando se conjugam com os ganhos em sobrevivência, e que são em média de 10 pontos percentuais, obtemos uma população de elevado potencial florestal com ganhos em volume/ha de cerca de 50%.

Tabela 4. Valores genéticos para volume individual, sobrevivência e volume/ha, estimados por análise BLUP aos clones mais relevantes, com indicação dos testes complementares em que participaram.

CARACTERIZAÇÃO CLONES		Tipo Espécie / Hibrido	Análise BLUP (%)			Teste	
Parceiro	Nome		vol	Sob	Vol/ha	FRIO	SECURA
RAIZ	H.588.124	(TTxGB)	56	22	90		x
RAIZ	77000	(GDxGB)	58	17	85	x	x
RAIZ	H1205	(SAxRD)	51	21	82	x	
RAIZ	BARAO	(URxMD)	40	16	61	x	x
RAIZ	GAVIÃO	GB	46	6	55		
RAIZ	ATLAS	GB	43	7	53		
RAIZ	G1202	GB	35	13	52	x	x
RAIZ	G1204	GB	39	8	50	x	
RAIZ	ESTRELA	GB	43	3	48	x	x
ALTRI	GM2-58	GB	37	6	45	x	x
RAIZ	SADO	GB	28	13	44	x	
ALTRI	CAM-3	GB	42	-1	41	x	x
ALTRI	YG15	(CYxGB)	15	21	39	x	x
RAIZ	PL139	GB	29	6	37		x
RAIZ	G74	GB	39	-2	37	x	x
ALTRI	MB43	GB	21	11	34	x	x
ALTRI	AC58	GB	21	6	28	x	x
média			38	10	52		

Nota: GB: *E. globulus*, GD: *E. grandis*, CY: *E. cypellocarpa*, MD: *E. maideni*, TT: *E. tereticornis*, UR: *E. urophylla*, SA: *E. saligna*, RD: *E. rufida*

De forma mais pormenorizada e relativamente à sobrevivência (aspetto relevante neste projeto), há alguns clones que se mostram próximos do valor padrão, isto é, sem quaisquer ganhos relevantes como sejam o G74, ESTRELA ou o CAM3. Em oposição, a sobrevivência dos clones H.588.124, YG15, H1205, BARÃO, 77000 pode ser em termos relativos muito elevada, sendo opções para florestação em regiões de elevado *stress* hídrico.

De entre os clones não estudados no frio ou secura, achou-se conveniente dar realce aos clones GAVIÃO e ATLAS pelo seu mérito em produtividade florestal.

4- Diversidade genética

Eucalyptus globulus sp. *globulus* Labill (Tasmanian Blue Gum) é uma espécie nativa do sudeste da Austrália, distribuindo-se por Victoria, no sudeste do país, e pela Tasmânia, incluindo as ilhas no Estreito de Bass (estreito marítimo que separa a Tasmânia do sul da Austrália).

Em 1999 Dutkowski and Potts determinaram, com base em 35 características quantitativas, como a madeira, a floração, o crescimento e as características da folha, uma estrutura populacional para *E. globulus* com 13 raças e 20 sub-raças.

Este agrupamento foi ulteriormente estudado com recurso a marcadores moleculares, e a afinidade genética entre raças foi clarificada (McKinnon et al. 2005; Steane et al. 2006; Yeoh et al. 2012). Steane et al. (2006) detetaram diversas populações Australianas com uma arquitetura genética bem estruturada. As relações entre raças de *E. globulus* correlacionaram-se melhor com a localização geográfica e não tanto com as características quantitativas. Yeoh et al. (2012) detetaram 5 grupos geneticamente distintos, congruentes com a distribuição geográfica das amostras.

Raças mais comuns:

- Laranja: Recherche Bay, Dromedary, S Tasmania, SE Tasmania e NE Tasmania
- Amarelo: Furneaux e NE Tasmania
- Rosa: King Island e W Tasmania
- Verde: Eastern e Western Otways
- Vermelho: Phillip Island, Strezelecki Ranges e South Gippsland

Raças menos comuns:

- Cinzento: Port Davey
- Azul: Tidal River
- Roxo: Wilsons Promontory

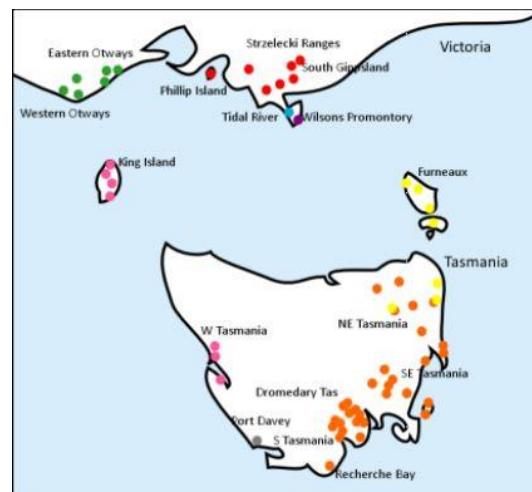


Figura 3. Amostragem ao longo da área de distribuição natural de *E. globulus* usada por Costa et al. (2017) para determinar a presença de 8 raças genéticas na Austrália (agrupando 16 populações naturais).

Costa et al. (2017a) aprofundaram os estudos da estrutura genética de *E. globulus* com amostras provenientes de 16 populações ao longo de toda área de distribuição e representando a diversidade nativa na Austrália. Assim, foram detetados até oito grupos genéticos, resultados consistentes com os estudos anteriores, baseados em características quantitativas e moleculares, que são apresentados na Figura 3, onde cada cor diz respeito a uma raça genética, de acordo com as regiões de seguida apresentadas.

Como se pode observar, as cinco primeiras raças são as mais representadas, sendo as três últimas de representação natural muito circunscrita.

Neste mesmo estudo foram adicionados indivíduos recolhidos em Portugal para procurar clarificar a origem da raça Portuguesa e os resultados sugeriram uma origem no sul e/ou sudeste da Tasmânia (raça laranja).

Há mais de 20 anos que o RAIZ tem vindo a usar e apurar metodologias moleculares para apoio ao programa de melhoramento genético (PMG) de *E. globulus*. O trabalho desenvolvido por Costa et al. (2017b) permitiu investigar a proveniência de indivíduos de pedigree desconhecido. Este estudo, implementado em colaboração com a Altri Florestal, visou aferir e verificar a origem Australiana de 50 materiais do programa de melhoramento genético desta empresa assim como outros pertencentes ao RAIZ.

Resultados

Para a maioria dos indivíduos, foi possível estabelecer a raça a que pertencem em função de terem integrado directamente o estudo referido (Costa, 2017b) ou porque os seus ascendentes foram alvo de estudo semelhante e, com base no pedigree perfeitamente conhecido, foi possível essa classificação. A Tabela 5 sintetiza estes resultados, excepto para os materiais híbridos, onde este procedimento não foi possível implementar.

Tabela 5. Para alguns dos clones estudados referem-se as espécies a que pertencem e, no caso de serem *E. globulus*, a que raça deverão ser alocados.

CARACTERIZAÇÃO CLONES Empresa	Nome	DIVERSIDADE	
		Espécie / Híbrido	Raça
ALTRI	GM2-58	<i>E. globulus</i>	laranja/amarela
ALTRI	CAM-3	<i>E. globulus</i>	laranja
ALTRI	MB43	<i>E. globulus</i>	laranja
ALTRI	AC58	<i>E. globulus</i>	laranja
ALTRI	YG15	(<i>E. cypellocarpa</i> x <i>E. globulus</i>)	-
RAIZ	G74	<i>E. globulus</i>	laranja
RAIZ	G1202	<i>E. globulus</i>	laranja
RAIZ	ESTRELA	<i>E. globulus</i>	laranja
RAIZ	PL139	<i>E. globulus</i>	laranja
RAIZ	G1204	<i>E. globulus</i>	laranja/vermelho
RAIZ	ATLAS	<i>E. globulus</i>	laranja/vermelho
RAIZ	SADO	<i>E. globulus</i>	laranja
RAIZ	GAVIÃO	<i>E. globulus</i>	laranja
RAIZ	H1205	(<i>E. saligna</i> x <i>E. rufa</i>)	-
RAIZ	H.588.124	(<i>E. tereticornis</i> x <i>E. globulus</i>)	-
RAIZ	77000	(<i>E. grandis</i> x <i>E. globulus</i>)	-
RAIZ	BARAO	(<i>E. urophylla</i> x <i>E. maidenii</i>)	-

Conclui-se que a raça laranja (Recherche Bay, Dromedary, S Tasmania, SE Tasmania e NE Tasmânia) é a mais representada com uma ligeira presença da amarela por via do clone GM2-58 e vermelha por via dos clones G1204 e ATLAS. Na realidade, por observação da Figura 3

constata-se que a população *E. globulus* chegada a esta fase do projecto provém toda da região Este da Tasmânia (desde o norte até ao sul), incluindo as ilhas Furneaux.

Contudo, se incluirmos os híbridos, bastante diversos quanto às espécies mães, pode concluir-se que a população de 17 clones mostra relativa diversidade genética.

5- Fitossanidade do clone H.588.124

Este clone foi observado em campo, em vários ensaios, e classificado como altamente susceptível à praga Vespa-da-galha. A vespa-da-galha (*Leptocybe invasa*) é um pequeno inseto que ataca os eucaliptos levando à formação de galhas. Em eucaliptos suscetíveis, as galhas causam deformações nos ramos jovens e desfolha intensa. Em Portugal, não é habitualmente um problema, já que a espécie *Eucalyptus globulus* raramente é atacada. No entanto, em países como o Brasil, onde são usados materiais genéticos suscetíveis (e.g. “urograndis”), é uma das principais pragas.



Figura 4. Aspecto da bicada da árvore do clone H.588.124 e pormenor das folhas e raminhos

Esta evidência invalida a sua utilização operacional já que poderíamos correr o risco de contribuir para a disseminação desta praga na floresta. Assim, apesar de ter mostrado bom crescimento e apreciável comportamento nos testes de secura, é um clone a descartar para uso operacional alargado até que se encontrem meios de luta ou contenção da praga, operacionalmente viáveis.

6- Caracterização tecnológica da madeira

A caracterização tecnológica da madeira é fundamental para aferir a qualidade do produto para o fim a que se destina, nomeadamente, em termos de aptidão industrial para produção de pasta para papel. No projeto iPLANT pretendeu-se caracterizar a madeira de um subconjunto dos melhores materiais genéticos com base nos resultados dos testes anteriores, ou seja, testes de tolerância ao frio e ao stress hídrico.

Sendo a árvore um ser vivo, as características da madeira como a densidade, variam em função de diversos fatores, tais como: (i) a posição da ‘amostra’ de madeira na árvore; (ii) a idade; (iii) as condições edafo-climáticas em que se deu o crescimento e sua interação com os materiais genéticos. Pelo exposto, nem sempre é fácil comparar as propriedades da madeira de diversos materiais genéticos.

No caso da Altri Florestal optou-se por fazer análises das propriedades da madeira usando a mesma forma de amostragem (um quarto da altura), a mesma idade, 11 anos, que foi também idade de corte, e um mesmo local, o ensaio do Carregal do Meio no concelho de Abrantes. A análise às propriedades da madeira dos materiais genéticos da Altri Florestal foi efetuada nos laboratórios da Celulose Beira Industrial (Celbi) segundo a metodologia adotada por esta empresa que segue normas nacionais e internacionais para o efeito.

No caso dos clones *E. globulus* do RAIZ as estimativas dos diferenciais dos clones para os valores padrão de rendimento e densidade são feitas por análise BLUP bivariada. No caso do rendimento, recorrendo a 5839 amostras NIR (medição indirecta para rendimento) e a 969 valores laboratoriais de cozimento, recolhidos sobre 2387 genótipos dispersos por 133 ensaios. No caso da densidade, recorreu-se a 53844 valores de PIODYN (medição indirecta para densidade) e a 1036 valores laboratoriais de densidade envolvendo 9987 genótipos dispersos por 144 ensaios. Os méritos obtidos (em termos de diferenciais para a grande média *E. globulus*) são somados aos valores médios padrão para 12 anos dessas mesmas variáveis (e que são 540 Kg/m³ e 54%, respectivamente para densidade e rendimento).

No caso dos híbridos RAIZ os seus valores de densidade e rendimento foram obtidos por avaliações laboratoriais diretas de rendimento e densidade e ambas ajustadas à idade de 12 anos por coeficientes de 0,486 pp/ano e 10 Kg/ano, respectivamente para rendimento e densidade, sobre a idade das amostras de madeira utilizadas nos ensaios laboratoriais. Do

mesmo modo se ajustaram os valores dos clones ALTRI já que tinham sido estimados aos 11 anos, como atrás referido.

O **consumo específico** indica-nos o volume de madeira (seco a determinada condição) que é consumido para produção de uma tonelada de pasta de papel. A formula utilizada foi:

$$CME = [1/(densidade * rendimento)] * 100000 * 0,90$$

O **rendimento volumétrico** indica-nos a quantidade de pasta em Kg que se obtém após o processamento de 1 tonelada de madeira. É um indicador muito útil já que nos permite estimar a produção em pasta por hectare de floresta plantada com um dado clone e o ganho alcançado por esse efeito para a fileira floresta/industria. A fórmula utilizada foi:

$$RV = (\text{densidade} * \text{rendimento})/100$$

Resultados

Os resultados das análises das propriedades da madeira de 16 dos 17 clones listados na Tabela 4 estão summarizadas na Tabela 6. Os principais parâmetros da madeira analisados foram o rendimento em pasta (%), a densidade básica (kg/m^3) e o consumo específico de madeira (CEM; $\text{m}^3/\text{toneladas}$ de pasta seca ao ar). Adicionam-se ainda os ganhos volumétricos retirados da Tabela 4 e o cálculo final de ganho em produção de pasta/ha (%). Deve realçar-se que para o clone H.588.124 não foi determinado o valor do rendimento e densidade da sua madeira pois em avaliações periciais em ensaios de campo foi classificado como altamente susceptível à Vespa-da-galha (*Leptocybe invasa*), o que invalida a sua utilização operacional já que poderíamos correr o risco de contribuir para a disseminação desta praga na floresta. Assim, apesar de ter mostrado bom crescimento e apreciável comportamento nos testes de secura, é um clone a descartar para uso operacional alargado até que se encontrem meios de luta ou contenção da praga, operacionalmente viáveis.

Relativamente aos restantes clones, os resultados mostram que as propriedades da madeira da maioria destes, usando o CEM como padrão de referência, são favoráveis para a produção industrial de pasta para papel, com particular relevância para os clones AC58, G74 e ESTRELA, cujos valores de CEM são muito inferiores ao valor de referência.

Tabela 6. Caracterização do rendimento em pasta (%), densidade básica (Kg/m³), consumo específico de Madeira-CEM (m³/tpsa) e Rendimento volumétrico (Kg pasta/ton madeira), produção de madeira/ha relativo ao padrão e ganhos finais em produção pasta/ha (%) relativamente ao padrão.

CLONE	Rendimento (%)	Densidade básica (Kg/m ³)	CEM (m ³ /ton psa)	RV (Kg/ton mad)	Vol madeira/ha (padrão = 100)	Ganho Pasta/ha (%)
Padrão	54,0	540	3,09	292	100	-
H1205	50,2	583	3,08	293	182	83
ESTRELA	55,6	567	2,85	315	148	60
77000	48,7	511	3,62	249	185	58
GAVIÃO	54,6	538	3,06	294	155	56
G1202	55,8	535	3,02	298	152	55
ATLAS	54,4	533	3,10	290	153	52
GM2-58	54,2	564	2,94	306	145	52
G1204	53,9	547	3,05	295	150	52
SADO	54,6	557	2,96	304	144	50
G74	57,1	556	2,84	317	137	49
YG15	50,9	605	2,92	308	139	47
BARAO	47,7	542	3,48	259	161	43
AC58	56,8	571	2,78	324	128	43
MB43	56,7	537	2,96	304	134	40
PL139	54,7	522	3,15	285	137	34
CAM-3	53,0	491	3,46	260	141	26
média_clones	53,7	547	3,08	294	150	50

Contudo, detetaram quatro clones cujo valor de CEM é superior ao valor de referência (77000, BARÃO, CAM3 e PL139) e que torná-los-ia pouco apelativos à industria não fora outras características que alteram esta apreciação, nomeadamente a possibilidade de rentabilizar áreas florestais através da maior produção de madeira por área florestada (os quatro possuem uma valor de cerca de 56% para vol/ha) e a consequente diminuição da aquisição de madeira fora da Península Ibérica (especialmente à América do Sul).

No caso específico de dois deles (77000 e BARÃO), poderão originar ganhos em produção de pasta/ha de cerca de 50%, especialmente em áreas de elevado *stress* hídrico pois que a estimativa da sua sobrevivência foi elevada (especialmente na perspectiva obtida através da análise BLUP).

7- Conclusões

O Projeto iPLANT permitiu analisar um conjunto de materiais genéticos do RAIZ e da Altri sob várias perspetivas: resistência ao frio, resistência à secura, crescimento e sobrevivência, diversidade genética e propriedades da madeira. Os resultados permitiram construir rankings de desempenho dos diversos materiais para cada um dos pontos em análise. A informação gerada por este trabalho é importante para a tomada de decisão no planeamento que envolve a produção e alocação dos materiais genéticos analisados.

O desenvolvimento de um novo clone para ser utilizado em larga escala exige 3 a 4 anos de testes em viveiro para aferição da sua capacidade de enraizamento. Claro que para alcançarmos este ponto, o trabalho com o clone começou muitos anos antes, desde logo identificando em matas comerciais a sua planta inicial (orteto) ou, mais comum em programas avançados de melhoramento genético, realizando o cruzamento controlado dos seus pais e obtenção de uma nova família em que um dos seus elementos é a planta que deu origem ao clone em causa. Segue-se a sua multiplicação e instalação em ensaio de campo e mais tarde a sua medição. Estas medições têm de esperar por idades certas quando as características que se querem avaliar se expressam plenamente nas árvores. Só uma pequena população da inicialmente instalada em ensaio irá ser escolhida por ser, quanto a essas características, muito superior às referências usadas.

Assim, os últimos 3-4 anos são anos de testes de enraizamento, segundo diversas metodologias e recorrendo a diferentes factores de produção, onde se define e certifica que certos clones estão aptos a ser multiplicados em larga escala.

Assim, e por parte do RAIZ, os clones que se identificaram nesta fase do projeto para uso operacional foram o 77000, BARÃO, ATLAS, ESTRELA, GAVIÃO e SADO. A sua alocação, a um nível de macro zonagem, deverá ser explicitada junto dos serviços de Planeamento e Operação Florestal da seguinte forma:

- quando as condições de crescimento foram as melhores (litoral norte e centro do País), recomenda-se o uso do SADO e ESTRELA (neste último caso desde que não haja risco de condições extremas de frio)
- quando as condições edafo-climáticas forem intermédias para o crescimento da *E. globulus* (nomeadamente o centro do País e Vale do Tejo), recomenda-se o uso dos

clones GAVIÃO e ATLAS, evitando o seu uso em condições de risco de frio pois desconhece-se o grau de tolerância a este factor abiótico

- finalmente, em condições de fraco crescimento da *E. globulus*, essencialmente por via de algum ou muito deficit hídrico (interior norte, centro e sul do País), aconselha-se a utilização dos clones BARÃO (zonas sem risco de frio) e 77000.
- no que se refere à aptidão da madeira os híbridos BARÃO e 77000 mostram-se inferiores ao padrão *E. globulus* (via o consumo específico e rendimento volumétrico) mas a sua produtividade florestal em condições de stress hídrico mais que compensa este facto, devendo, portanto, ser especialmente utilizados nessas circunstâncias. Os restantes clones *E. globulus* são perfeitamente compatíveis com o processo fabril ou mesmo com comportamento acima da média
- relativamente à diversidade natural que estes clones possam apresentar (híbridos excluídos) serão todos oriundos de NE/SE da Tasmania, embora os clones ATLAS e G1204 contenham alguma ascendência de raça vermelha (Strezelecki Ranges)

A ALTRI, face aos resultados obtidos, irá no seu processo de planeamento em termos da produção e alocação dos seus materiais considerar o seguinte:

- Para locais com maior exposição ao frio: (i) dar preferência aos materiais que tiveram melhores resultados - um *E. globulus* (AC58) e outro híbrido (GB2: *E. bicostata* x *E. globulus*); (ii) evitar a utilização dos clones AR2-46, MG3 e CAM3.
- Para locais com maior exposição à secura: os resultados não são completamente conclusivos relativamente ao seu comportamento em campo e em ambiente controlado, mas mesmo assim regista-se: (i) o bom desempenho do CAM3 em ambos os testes; (ii) o YG15 e AC58 apresentaram bom desempenho em campo e o MB43 e GM2-58 em ambiente controlado.
- Em termos de crescimento destaca-se o GM2-58 e em termos de sobrevivência o YG15: Desta forma será interessante considerar o GM2-58 nas condições mais produtivas e o YG15 nas condições menos favoráveis.
- Relativamente à diversidade genética: os resultados demonstram uma predominância na raça laranja pelo que em igualdade de circunstâncias para a

alocação de materiais genéticos será de considerar que o GM2-58 pertence à raça laranja/amarela.

- Relativamente às propriedades da madeira o CAM-3 mostra ter propriedades inferiores relativamente aos outros materiais genéticos considerados nesta análise. Este facto deverá ser considerado na produção e alocação deste material genético.

Os resultados obtidos pelos materiais genéticos no âmbito deste trabalho não esgotam a informação que já existe sobre os mesmos tanto pelo RAIZ como pela Altri. Nesse sentido as futuras decisões a tomar em relação à sua utilização não se deve esgotar na informação aqui apresentada. O interesse deste trabalho mostra que existe uma oportunidade em utilizar novamente as metodologias deste projeto a um conjunto mais alargado de materiais genéticos.

7- Bibliografia

- Costa E Silva, F., Shvaleva, A., Broetto, F., Ortuo, M. F., Rodrigues, M. L., Almeida, M. H., Chaves, M. M., & Pereira, J. S. (2009). Acclimation to short-term low temperatures in two *Eucalyptus globulus* clones with contrasting drought resistance. *Tree Physiology*, 29(1), 77–86. <https://doi.org/10.1093/TREEPHYS/TPN002>
- Leslie, A. D., Mencuccini, M., & Perks, M. (2014). Frost damage to eucalypts in a short rotation forestry trial in Cumbria (England). *IForest*, 7(3), 156–161. <https://doi.org/10.3832/IFOR1161-007>
- Costa J, Vaillancourt RE, Steane DA, et al (2017a) Microsatellite analysis of population structure in *Eucalyptus globulus*. *Genome* 60:770–777. doi: dx.doi.org/10.1139/gen-2016-0218
- Costa J, Cunha F, Martins D, Marques C, Borralho N, Leal L (2017b) Diversidade e proveniência de materiais genéticos da ALTRI (D3.2.1). Documento interno do RAIZ.
- Dutkowski GW, Potts BM (1999) Geographic Patterns of Genetic Variation in *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus* and a Revised Racial Classification. *Aust J Bot* 47:237–263.
- McKinnon GE, Potts BM, Steane DA, Vaillancourt RE (2005) Population and phylogenetic analysis of the cinnamoyl coA reductase gene in *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae). *Aust J Bot.* doi: 10.1071/BT04195
- Steane D a., Conod N, Jones RC, et al (2006) A comparative analysis of population structure of a forest tree, *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), using microsatellite markers and quantitative traits. *Tree Genet Genomes* 2:30–38. doi: 10.1007/s11295-005-0028-7
- Yeoh SH, Bell JC, Foley WJ, et al (2012) Estimating population boundaries using regional and local-scale spatial genetic structure: an example in *Eucalyptus globulus*. *Tree Genetic Genomes* 8:695–708. doi: 10.1007/s11295-011-0457-4