

MARCELO LELIS DE OLIVEIRA

EFEITO DA ESTAQUIA, MINIESTAQUIA, MICROESTAQUIA E
MICROPROPAGAÇÃO NO DESEMPENHO SILVICULTURAL
DE CLONES DE *Eucalyptus* spp.

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Ciência
Florestal, para obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2003

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

O48e
2003

Oliveira, Marcelo Lelis de, 1975-

Efeito da estaquia, miniestquia, microestquia e micropropagação no desempenho silvicultural de clones de *Eucalyptus* spp. / Marcelo Lelis de Oliveira. – Viçosa : UFV, 2003.

53p. : il.

Orientador: Aloisio Xavier
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa

1. Eucalipto - Clonagem. 2. Eucalipto - Propagação por estaquia. 3. Eucalipto - Propagação por miniestquia. 4. Eucalipto - Propagação por microestquia. 5. Eucalipto - Micropropagação. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDO adapt. CDD 634.91815

MARCELO LELIS DE OLIVEIRA

EFEITO DA ESTAQUIA, MINIESTAQUIA, MICROESTAQUIA E
MICROPROPAGAÇÃO NO DESEMPENHO SILVICULTURAL
DE CLONES DE *Eucalyptus* spp.

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Ciência
Florestal, para obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

APROVADA: 09 de junho de 2003

Prof. Haroldo Nogueira Paiva
(Conselheiro)

Prof. Ismael Eleotério Pires
(Conselheiro)

Prof. José Mauro Gomes

Pesq. Flávio Pereira da Silva

Prof. Aloisio Xavier
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida.

À minha família, pelo apoio, pelo amor e pela compreensão.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, pela oportunidade de realização deste treinamento.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela bolsa de estudos.

Ao Professor Aloisio Xavier, pela orientação, pela amizade e por todos os ensinamentos.

Às empresas Celulose Nipo-Brasileira S/A (CENIBRA) e a V & M FLORESTAL, pelo fornecimento de material genético (clones) e pelo apoio físico e financeiro.

Aos membros da banca examinadora, pelas críticas e sugestões.

Aos integrantes do grupo de Pesquisa e Desenvolvimento em Silvicultura Clonal, Glêison, Miranda, Elisa, Fabiana, Rodrigo, Marcos, Flávio, Patrícia e Fernanda pela amizade, ajuda e troca de experiências.

Aos meus amigos de curso, Crodoaldo, Fausto, Glauco, Lucimar, Marcio Oliveira e Robson.

E a todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

MARCELO LELIS DE OLIVEIRA, filho de Milton Antônio de Oliveira e Maria das Graças Lelis de Oliveira, nasceu em 22 de julho de 1975, em São Miguel do Anta-MG.

Em 1989, concluiu o 1º grau na Escola Estadual Pedro Lessa, em São Miguel do Anta-MG. Em 1995, concluiu o 2º grau na Escola Estadual Effie Rolfs, em Viçosa-MG.

Em 2001, diplomou-se Engenheiro Florestal pela Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. Em agosto de 2001, ingressou no Curso de Mestrado em Ciência Florestal, Área de Concentração em Silvicultura Clonal, na UFV, submetendo-se à defesa de tese em junho de 2003.

Em junho de 2003, ingressou no quadro de Engenheiros da Amapá Florestal e Celulose S/A (AMCEL), atuando na área de Viveiro e Pesquisa Florestal.

CONTEÚDO

	Página
RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Silvicultura clonal	3
2.2. Seleção clonal	4
2.3. Gradiente de juvenilidade	5
2.4. Propagação vegetativa de <i>Eucalyptus</i>	7
2.4.1. Estaquia	9
2.4.2. Micropropagação	10
2.4.3. Microestaquia	11
2.4.4. Miniestaquia	12
2.5. Desempenho silvicultural de clones de <i>Eucalyptus</i>	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
EFEITO DA ESTAQUIA, MINIESTAQUIA, MICROESTAQUIA E MICROPROPAGAÇÃO NO DESEMPENHO SILVICULTURAL DE CLONES DE <i>Eucalyptus grandis</i>	22
1. INTRODUÇÃO	23
2. MATERIAL E MÉTODOS	25
2.1. Obtenção das mudas clonais	25
2.2. Tratamentos e delineamento experimental	27
2.3. Avaliações	27
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	28
3.1. Crescimento em altura	28
3.2. Crescimento em diâmetro (<i>dap</i>)	30
3.3. Biomassa da parte aérea	32
4. CONCLUSÕES	34
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

EFEITO DA ESTAQUIA, MINIESTAQUIA, MICROESTAQUIA E MICROPROPAGAÇÃO NO DESEMPENHO SILVICULTURAL DE CLONES HÍBRIDOS DE <i>Eucalyptus</i> spp.....	37
1. INTRODUÇÃO	38
2. MATERIAL E MÉTODOS	40
2.1. Obtenção das mudas clonais	40
2.2. Tratamentos e delineamento experimental.....	42
2.3. Avaliações	42
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	43
3.1. Crescimento em altura.....	43
3.2. Crescimento em diâmetro (<i>dap</i>).....	46
3.3. Biomassa da parte aérea.....	46
4. CONCLUSÕES	51
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
3. CONCLUSÕES GERAIS	53

RESUMO

OLIVEIRA, Marcelo Lelis de, M.S., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2003.

Efeito da estaquia, miniestaquia, microestaquia e micropropagação no desempenho silvicultural de clones de *Eucalyptus* spp. Orientador: Aloisio Xavier. Conselheiros: Haroldo Nogueira de Paiva e Ismael Eleotério Pires.

O presente trabalho objetivou avaliar o desempenho silvicultural de clones de *Eucalyptus* spp., propagados pela estaquia, miniestaquia, microestaquia e micropropagação quanto às características de crescimento em altura e diâmetro a altura do peito (*dap*), bem como a biomassa da parte aérea em condições de campo, em locais distintos, avaliados aos 4, 8, 16 e 24 meses de idade. Os estudos realizados na região do Vale do Rio Doce (Cenibra), de forma geral, para os 4 clones de *Eucalyptus grandis* avaliados, permitiram concluir que na fase inicial do teste clonal, houve um melhor desempenho das técnicas de micropropagação e microestaquia em relação a miniestaquia e estaquia para as características avaliadas. No entanto, para alguns clones, a miniestaquia mostrou resultados similares a micropropagação e microestaquia e com ligeira superioridade à estaquia. Por outro lado, de modo geral, evidenciou-se a uniformização dos resultados entre as técnicas de propagação clonal para as características avaliadas aos 24 meses de idade do teste clonal. Com relação aos estudos realizados no Norte de Minas Gerais (V & M Florestal), em dois locais distintos, os resultados obtidos permitiram concluir que os efeitos das técnicas de propagação não resultaram em diferenças significativas em altura e *dap*, nas idades

avaliadas, para os clones estudados. Em relação à biomassa da parte aérea, para ambos os locais avaliados, os resultados obtidos não indicaram uma tendência sobre possíveis efeitos das técnicas de propagação em relação ao comportamento silvicultural dos clones.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Marcelo Lelis de, M.S., Universidade Federal de Viçosa. June of 2003.
Effect of the cutting, minicutting, microcutting and micropropagation techniques in the silvicultural performance of *Eucalyptus* spp. clones.
Adviser: Aloisio Xavier. Committee Members: Haroldo Nogueira de Paiva and Ismael Eleotério Pires.

The objective of the present study was to evaluate the *Eucalyptus* spp. clones silvicultural performance, propagated by the cutting, minicutting, microcutting and micropropagation techniques concerning the height and diameter growth characteristics, as well as the aerial biomass in field conditions, in distinct places, evaluated at 4, 8, 16 and 24 months old. The studies carried out in the Vale do Rio Doce region (Cenibra), in a general way, for the four *Eucalyptus grandis* clones evaluated, permitted to conclude that in the initial phase of the cloning test, there was a better performance of the micropropagation and microcutting techniques in relation to the minicutting and cutting for the evaluated characteristics. However, for some clones, the minicutting showed similar results to the micropropagation and microcutting techniques, and with a slight superiority to the cutting. On the other hand, in a general way, the uniformity of the results among the cloning propagation techniques for the evaluated characteristics at 24 months old was evidenced. Concerning the studies carried out in the North of Minas Gerais State (V & M Florestal), in two distinct places, the obtained results permitted conclude that the

propagation techniques effects did not result in significant differences in height and diameter growth, in the evaluated ages, for the studied clones. In relation to the aerial biomass, the obtained results did not indicate a tendency about possible effects of the propagation techniques in relation to the clones silvicultural performance.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Iniciada no sudeste do Brasil, na década de 70, a clonagem de *Eucalyptus* tinha como objetivo principal, a multiplicação massal de indivíduos resistentes ao cancro. Com os resultados obtidos nesse período, despertou-se o interesse pela silvicultura clonal, que, a partir da década de 80, consolidou-se em várias empresas florestais, principalmente no setor de celulose e papel. Esse interesse incentivou o desenvolvimento da clonagem, resultando na consolidação da técnica de propagação vegetativa, além do aperfeiçoamento e da adaptação das técnicas existentes, culminando com o desenvolvimento das técnicas de microestaquia e miniestaquia, adotadas recentemente pela maioria das empresas florestais.

O sucesso da microestaquia e miniestaquia na propagação vegetativa de *Eucalyptus* deve-se, em parte, ao conhecimento do processo de maturação, que geralmente afeta as espécies lenhosas. De acordo com o seu desenvolvimento ontogenético, uma das mais importantes conseqüências para a clonagem é a redução ou até mesmo a perda da capacidade de enraizamento, que se verifica em plantas adultas (GOMES, 1987; GREENWOOD e HUTCHISON, 1992; LIBBY e AHUJA, 1993).

Desta forma, a escolha dos propágulos vegetativos ideais visa diminuir as perdas relacionadas à não aptidão para a propagação vegetativa, formar mudas com maior vigor aéreo e radicular e visa também evitar o declínio do crescimento no campo, entre outras características. Segundo HACKETT (1987) e HACKETT e MURRAY (1993), o conhecimento das mudanças, que ocorrem durante o ciclo de vida de plantas arbóreas, tem importância prática significativa, pois a produtividade e

a qualidade de uma espécie florestal estão correlacionadas com o seu grau de maturidade. Assim, a compreensão dos aspectos relacionados a mudanças morfológicas e fisiológicas dos propágulos vegetativos a serem propagados e seu posterior desenvolvimento no campo virão incrementar em muito, o sucesso dos programas de silvicultura clonal.

Atualmente, o uso das técnicas de microestaquia e miniestaquia pela maioria das empresas do setor florestal representa a aplicação de conhecimentos relacionados ao gradiente de maturação e rejuvenescimento no processo de propagação de mudas de *Eucalyptus*, ficando os ganhos bem evidenciados na fase de viveiro, com a utilização de propágulos mais juvenis (XAVIER e COMÉRIO, 1996; ASSIS, 1997; XAVIER et al., 2001; TITON, 2001).

XAVIER et al. (1997) citam ganhos em crescimento no campo, com o uso de propágulos vegetativos mais juvenis na micropropagação e possíveis ganhos com a microestaquia em comparação com a técnica de estaquia. No entanto, a implantação de teste clonal no campo, com o uso de propágulos vegetativos com diferentes graus de juvenilidade como a estaquia, micropropagação, microestaquia e miniestaquia, ainda é pouco conhecido. Um melhor entendimento dos efeitos do gradiente de juvenilidade e do rejuvenescimento em clones de *Eucalyptus* selecionados em idade adulta permitirá uma melhor interpretação dos testes clonais e redução de possíveis efeitos, que afetem a repetibilidade de um determinado clone, além da confirmação dos possíveis ganhos obtidos com o uso de propágulos mais juvenis.

Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito das técnicas de estaquia, micropropagação, microestaquia e miniestaquia, no crescimento em altura e diâmetro (*dap*), bem como na produção de biomassa da parte aérea, de 8 clones de *Eucalyptus* spp., em diferentes condições de campo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Silvicultura clonal

A silvicultura clonal vem sendo cada vez mais utilizada, tornando-se de grande importância para o desenvolvimento da produção florestal. A utilização de clones na silvicultura permite a formação de povoamentos de alta produtividade, com grande homogeneidade e, conseqüentemente, a racionalização das atividades operacionais e a melhoria da qualidade da madeira. Para *Eucalyptus*, por exemplo, a adoção da silvicultura clonal tem possibilitado a implantação de projetos de reflorestamento em áreas até então não indicadas, dadas as limitações de material genético, via seminal, para atender a tal propósito.

A silvicultura clonal, como um sistema geral, vem sendo utilizada desde o início do século passado, sendo praticada de maneira crescente nos dias atuais. A silvicultura clonal abrange muito mais do que simplesmente o processo de clonagem, que é uma condição prévia para se fazê-la. Segundo XAVIER (2002), a silvicultura clonal pode ser caracterizada como aquela que compreende todo o processo de formação de uma floresta clonal, ou seja: seleção da árvore superior, multiplicação vegetativa, avaliação de árvores selecionadas em teste clonal, produção de mudas e estabelecimento da floresta clonal.

2.2. Seleção clonal

A existência no gênero *Eucalyptus* de variabilidade fenotípica entre espécies, procedências, famílias e indivíduos (clones), para as características de interesse na produção de madeira e o forte controle genético envolvido na expressão da grande maioria dessas características asseguram a possibilidade de obtenção de madeira de alta qualidade para suprir as necessidades industriais, a partir da implementação de um programa de silvicultura clonal (SILVA, 2001).

Essa grande variabilidade associada a uma alta intensidade de seleção, seguida da propagação clonal de indivíduos superiores, de diferentes espécies de *Eucalyptus*, proporcionou um dos maiores avanços genéticos de que se tem conhecimento no Brasil. Este procedimento, não só permitiu um aumento expressivo na produtividade de madeira por unidade de área, como também possibilitou a obtenção de povoamentos florestais mais homogêneos (BERTOLUCCI et al. 1993 e ANDRADE, 2002), tornando muito mais eficiente e econômica, a produção de celulose e de outros produtos madeireiros no país (BERTOLUCCI et al., 1993).

Segundo GONÇALVES et al. (2001), o avanço genético inicial foi excepcional, principalmente porque as empresas dispunham de milhões de plantas oriundas de propagação sexuada e, evidentemente, aplicaram uma alta intensidade de seleção. Entretanto, fundamentos amostrais indicam que a seleção continuada em uma mesma população, não permite obter progressos genéticos adicionais. Comentando a esse respeito, GONÇALVES et al. (2001) e ANDRADE (2002), argumentaram que, se amostras sucessivas, de igual tamanho, são retiradas de uma mesma população, a probabilidade de se obterem indivíduos superiores é a mesma para todas as amostras.

Para comprovar a superioridade genética dos indivíduos fenotipicamente selecionados, torna-se necessário que estes sejam multiplicados e avaliados em testes clonais. Contudo, experiências com algumas espécies têm mostrado que alguns propágulos vegetativos não representam fielmente o crescimento e o desenvolvimento das árvores de que foram derivados (FRAMPTON e FOSTER, 1993). Segundo estes mesmos autores, a utilização de mudas oriundas de determinados propágulos vegetativos pode resultar na redução de potenciais benefícios da clonagem, como a produtividade. Neste caso, um fator em potencial, que pode interferir no crescimento das árvores e induzir a erros no processo de seleção, está relacionado com as mudanças morfológicas e fisiológicas que as plantas arbóreas sofrem durante

o seu ciclo de vida. Assim, propágulos originários de determinadas partes da planta, que propiciam um menor crescimento, podem levar à rejeição de clones com elevado valor genético.

Desta forma, a compreensão dos aspectos relacionados a mudanças morfológicas e fisiológicas dos propágulos vegetativos e seu posterior desenvolvimento no campo tornam-se de grande importância no sucesso dos programas de silvicultura clonal. A escolha dos propágulos vegetativos ideais visa diminuir perdas relacionadas à não aptidão para a propagação vegetativa, formar mudas com maior vigor aéreo e radicular e visa também evitar o declínio do crescimento no campo, entre outras características. Segundo HACKETT (1987) e HACKETT e MURRAY (1993), o conhecimento das mudanças que ocorrem durante o ciclo de vida de algumas plantas arbóreas tem importância prática significativa pelas seguintes razões: a) o comprimento do período juvenil está inversamente relacionado com a eficiência no melhoramento de plantas arbóreas perenes e seleção de cultivares melhorados; b) a qualidade e produtividade de uma espécie florestal estão correlacionadas com o seu grau de maturidade, entre outras.

2.3. Gradiente de juvenilidade

Os aspectos relacionados à maturação ou mudança de fase do material vegetal em plantas lenhosas têm recebido especial atenção nos últimos anos, em virtude da possibilidade de se obterem inúmeras vantagens nessa forma de abordagem. Atualmente, existem informações contraditórias e o entendimento da troca de fase juvenil para adulta mostra-se de grande importância no sucesso na clonagem de árvores maduras (WENDLING e XAVIER, 2001).

O ciclo de vida das plantas se constitui de sucessivas fases de desenvolvimento, isto é, embriogênese, germinação, crescimento vegetativo e reprodutivo e senescência, normalmente denominada de idade ontogenética. A idade fisiológica corresponde aos aspectos negativos da idade, tais como a perda de vigor, o aumento da susceptibilidade às condições adversas ou à deterioração, em geral. A idade cronológica se refere ao tempo decorrido desde a germinação até a data de observação (FONTANIER e JONKERS, 1976).

Segundo GONÇALVES (1982), durante o ciclo de vida, as plantas arbóreas sofrem mudanças morfológicas e fisiológicas, que influenciam seus hábitos de

crescimento, anatomia do caule, vigor e filotaxia, forma e estrutura da folha, capacidade de enraizamento ou florescimento, presença de espinhos, entre outras. Segundo o mesmo autor, essas mudanças caracterizam a existência de duas fases no desenvolvimento de plantas lenhosas, conhecidas como fase juvenil e adulta.

Para HACKETT e MURRAY (1993), as características relacionadas à maturação são estáveis e reversíveis, porém não apresentam o mesmo grau de facilidade na reversão, sendo essa facilidade de reversão para determinada característica, variável em decorrência do tempo de desenvolvimento da planta. Segundo os mesmos autores, as características de maturação são transmitidas por meio das divisões celulares de uma geração somática para a outra. BONGA (1982) considerou que, dentro de uma mesma árvore, existem zonas que mantêm por mais tempo, a juvenilidade e são suscetíveis de serem estimuladas para a produção de material vegetativo fisiologicamente mais juvenil.

Estudos para algumas características mostram que, em algumas espécies lenhosas, existe um gradiente de juvenilidade em direção à base da árvore (ZOBEL e TALBERT, 1984), com o grau de maturação aumentando, à medida que se aproxima do ápice da planta (GREENWOOD e HUTCHISON, 1993), sendo variável entre espécies (HACKETT, 1987). Segundo HARTMANN et al. (1997), a maior juvenilidade da região basal é devida ao fato de os meristemas mais próximos da base se terem formado em épocas mais próximas à germinação, que os das regiões terminais.

Em estudos realizados por GREENWOOD e HUTCHISON (1993), observou-se que a capacidade de crescimento em diâmetro e altura com o aumento da maturação pode ser facilmente demonstrada pelo enraizamento de estacas ou pela enxertia de propágulos de árvores de diferentes idades. De acordo com os mesmos autores, enxertos e estacas juvenis não somente produzem maior crescimento do caule, mas também, maior quantidade de folhas e biomassa. A capacidade de enraizamento decresce com o aumento da maturação e um menor crescimento em altura e diâmetro pode ser função de um menor vigor do sistema radicular, em propágulos mais maduros. HARTMANN et al. (1997) citam que gemas para enxertia coletadas na parte juvenil de plantas de citrus, maçã e pêra produzem mudas mais vigorosas, espinhentas e de florescimento menos precoce. Gemas coletadas na parte madura da mesma planta podem ser usadas para produzir árvores com um crescimento menos vigoroso casca lisa e sem espinho e de florescimento mais precoce.

Os hábitos de crescimento (plagiotropia e ortotropia) de espécies florestais também podem variar em função da maturidade dos propágulos que deram origem a estas plantas. Árvores originadas por enxertia ou enraizamento de estacas de propágulos juvenis tendem a exibir maior número de brotações por unidade de área e uma maior tendência ao crescimento ortotrópico do que aquelas originadas de propágulos maduros (ZOBEL e TARBERT, 1984; GREENWOOD e HUTCHISON, 1993).

Quanto ao sistema radicular de algumas espécies lenhosas, estacas de mudas jovens (juvenis) enraízam facilmente, enquanto outras provenientes de plantas mais velhas enraízam esporadicamente ou definitivamente, não enraízam (ZOBEL e TALBERT, 1984; ELDRIDGE et al., 1994), embora ocorram grandes variações entre espécies.

Alguns trabalhos enfocam bem o declínio da habilidade de propagação vegetativa com o aumento da maturação dos propágulos. Para *Eucalyptus*, por exemplo, trabalhos têm demonstrado que estacas cotiledonares têm um alto potencial de enraizamento, enquanto estacas coletadas acima do 15º nó apresentam baixo enraizamento ou definitivamente não enraízam (HACKETT, 1987). De maneira geral, GOMES (1987) afirma que quanto mais juvenil for o material a ser propagado, maiores as chances de sucesso, seja em termos de porcentagem, rapidez de formação e qualidade das raízes ou pela capacidade de crescimento da nova planta.

Alguns autores também relacionam mudanças morfológicas e anatômicas das folhas e caules, com a troca da fase juvenil para a adulta (GONÇALVES, 1982; BOLIANI, 1986; FOUUDA, 1996; HARTMANN et al., 1997).

2.4. Propagação vegetativa de *Eucalyptus*

Os trabalhos de propagação vegetativa no gênero *Eucalyptus*, em escala comercial, segundo ASSIS (1996), tiveram início no Marrocos, nos anos 50. No Brasil, a propagação vegetativa de *Eucalyptus* começou a se destacar na década de 70, a partir do desenvolvimento da técnica da estaquia em escala operacional, justificada pela necessidade de formação de florestas em áreas onde havia necessidade de multiplicação de genótipos resistentes ao cancro.

A propagação vegetativa tem lugar especial na silvicultura clonal de *Eucalyptus* pela existência de uma alta variabilidade genética em suas espécies.

Consegue-se com ela capturar o componente genético aditivo e não-aditivo, resultando em maiores ganhos dentro de uma mesma geração de seleção (ASSIS, 1996; MACRAE e COTTERILL, 1997), maior uniformidade de crescimento e alta produtividade (ASSIS, 1996; COMÉRIO et al., 1996; MACRAE e COTTERILL, 1997), melhoria das qualidades tecnológicas da madeira e de seus produtos (ASSIS, 1996; ELDRIDGE et al., 1994), entre outras características desejáveis. Apesar das vantagens e ganhos obtidos através da propagação vegetativa, alguns fatores são limitantes como o risco do estreitamento da base genética dos plantios clonais (LANDIS et al., 1992), a não ocorrência de ganhos genéticos adicionais a partir da primeira geração de seleção (ASSIS, 1996) e, principalmente, a dificuldade de enraizamento em plantas não juvenis (GOMES, 1987).

Assim, a importância do *Eucalyptus* no cenário atual da silvicultura clonal brasileira, aliada à crescente demanda por madeira, tem estimulado consideráveis investimentos em pesquisa aplicada proporcionando o desenvolvimento da propagação vegetativa com o surgimento e aperfeiçoamento de novas técnicas de propagação. Atualmente, prevalece a técnica de microestaquia e miniestaquia em razão dos avanços obtidos na técnica de micropropagação e estaquia convencional, com ganhos expressivos quanto aos aspectos técnicos, operacionais e econômicos, obtendo-se mudas com alta qualidade e excelente produtividade. Há ainda a viabilidade da propagação de clones com características desejáveis, que, pelas técnicas de estaquia, eram eliminados. Um dos fatores técnicos que impulsionaram o sucesso das técnicas de microestaquia e miniestaquia foi o uso de propágulos vegetativos com maior grau de juvenildade e/ou rejuvenescidos, obtendo-se assim, maior percentual, velocidade e qualidade de enraizamento, bem como melhor qualidade da muda produzida.

No entanto, cabe ao profissional a escolha da técnica a ser utilizada na multiplicação do genótipo, pois segundo SANTOS (1994), os métodos de clonagem em escala comercial são constituídos por etapas, ora mais simples, ora mais complexas, mas que geralmente implicam em consideráveis gastos com infra-estrutura, energia, mão-de-obra qualificada ou especializada, equipamentos e materiais, etc. Vale salientar que os resultados de pesquisa de viveiro e campo são extremamente importantes, visando a confirmação da melhor estratégia a ser adotada, pois cada empresa apresenta um conjunto de clones e condições ambientais próprias, associadas a uma condição operacional e orçamentária (XAVIER et al, 2001).

A propagação vegetativa em *Eucalyptus* é uma realidade que, em maior ou menor grau de sofisticação, está presente na maioria das empresas florestais brasileiras. A estaquia, a micropropagação, a microestaquia e a miniestaquia, estão entre as técnicas de maior importância na propagação vegetativa.

2.4.1. Estaquia

A propagação vegetativa consiste fundamentalmente em destacar da planta original um ramo, uma folha ou raiz e colocá-los em um meio adequado para que se forme um sistema radicular e/ou se desenvolva a parte aérea (PAIVA e GOMES, 1995). Envolve ainda a regeneração de meristemas adventícios radiculares diretamente a partir dos tecidos associados com o tecido vascular ou a partir do tecido caloso na base da casca (MALAVASI, 1994).

O processo de desenvolvimento das raízes adventícias nas estacas caulinares pode ser dividido em três fases: a) formação de grupos de células meristemáticas, as iniciais da raiz; b) diferenciação destes grupos de células em primórdios radiculares reconhecíveis; c) desenvolvimento e emergência das novas raízes e formação das conexões vasculares com os tecidos condutores (HARTMANN et al., 1997).

Quanto ao processo de estaquia de *Eucalyptus*, PAIVA e GOMES (1995) explicam que, depois de realizada a seleção da árvore matriz, a mesma é cortada na base, visando a produção de brotos, dos quais são obtidas as estacas para enraizamento em casa de vegetação. As brotações podem ser colhidas no campo, no caso de árvores selecionadas em plantios comerciais, ou no jardim clonal, que é a segunda etapa do processo. As estacas caulinares semi-lenhosas (segmentos de 6 - 10 cm de tamanho) permanecem na casa de vegetação por um período de 20 a 45 dias, dependendo da região, da época do ano e da espécie envolvida. Quando as estacas estiverem enraizadas em casa de vegetação, serão aclimatadas em casa de sombra e, em seguida, transferidas para um local de pleno sol, onde completam seu desenvolvimento e recebem os tratamentos finais, antes de serem levadas ao campo. Normalmente, as mudas produzidas por enraizamento de estacas estão aptas a serem plantadas, quando atingem 90 a 120 dias de idade.

Dentre os métodos de propagação vegetativa, a estaquia é ainda, a técnica da qual se tem o maior domínio e conhecimento científico e representa um dos maiores avanços tecnológicos na área florestal (HARTMANN et al., 1997). Contudo, sua

aplicação se restringe a espécies e clones que apresentam certa facilidade de enraizamento, trazendo consigo problemas de qualidade do sistema radicular, principalmente no que diz respeito à porcentagem de enraizamento e qualidade do sistema radicular, formando raízes predominantemente superficiais. Estas limitações estão relacionadas à perda ou à redução da competência para o enraizamento, provocada pelo envelhecimento ontogenético (ASSIS, 1997), o que levou ao desenvolvimento de novas técnicas, conforme mencionado a seguir.

2.4.2. Micropropagação

A propagação vegetativa *in vitro* ou micropropagação é assim denominada devido ao tamanho dos propágulos utilizados, sendo considerada a aplicação mais prática da cultura de tecidos e aquela de maior impacto (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). Segundo HARTMANN et al., (1997) a micropropagação compreende o cultivo asséptico de partes das plantas em condições controladas de nutrição, luminosidade, fotoperíodo e temperatura. Baseia-se no fato de qualquer célula do organismo ser totipotente, isto é, encerrar no seu núcleo toda a informação genética necessária à regeneração de uma planta completa, estando, portanto, apta a dar origem, por si só, a uma nova planta, quando submetida a condições apropriadas (KERBAUY, 1999).

A técnica de micropropagação surgiu com grande potencialidade na década de 80, devido às dificuldades encontradas na propagação vegetativa de algumas espécies e clones, principalmente quando envolvia material adulto e variação entre genótipos (BONGA e VON ADERKAS, 1992). De acordo com CHAPERON (1987), a micropropagação de *Eucalyptus* deve ser usada quando outras técnicas de propagação vegetativa não apresentam resultados satisfatórios para determinadas espécies, quando a árvore selecionada não pode ser rejuvenescida por meio da promoção de brotações basais (árvore protegida em parques ou em propriedades particulares) e quando se deseja aumentar a taxa de propagação e abreviar o tempo para seu uso comercial.

No entanto, a técnica de micropropagação apresenta algumas limitações, como o alto custo da muda em comparação com outras técnicas de propagação, dependência de laboratório de micropropagação e mão-de-obra especializada, requerendo aprimoramento de suas etapas para a utilização efetiva em programas de

reflorestamento (BONGA e VON ADERKAS, 1992), o que vem limitando a sua implantação na maioria das empresas florestais, para produção em escala comercial.

Com o surgimento da microestaquia na década de 90, a micropropagação passou a ser recomendada na clonagem de *Eucalyptus*, visto ser eficiente no processo de reversão à juvenilidade (XAVIER et al., 1997; GUIMARÃES et al., 1997), facilitando desta forma, a propagação vegetativa em escala comercial, visando a formação do jardim microclonal para a produção de microestacas de clones, que eram inviáveis pela técnica de estaquia convencional.

2.4.3. Microestaquia

A microestaquia é uma técnica de propagação vegetativa na qual se utilizam propágulos (microestacas) rejuvenescidos em laboratório de micropropagação para serem enraizados, visando a obtenção de mudas. É baseada no máximo aproveitamento da juvenilidade dos propágulos vegetativos, cuja origem, desenvolvimento e aplicação em *Eucalyptus*, se deveu principalmente, aos trabalhos realizados por ASSIS et al. (1992) e XAVIER e COMÉRIO (1996). Segundo ASSIS (1996) a idéia da utilização da microestaquia como método de propagação vegetativa de *Eucalyptus* surgiu da constatação de que a perda ou a redução da competência para o enraizamento, provocada pelo envelhecimento ontogenético das plantas, em espécies lenhosas, pode ser muito mais rápida do que os registros existentes na literatura sobre o assunto.

Segundo XAVIER e COMÉRIO (1996), os procedimentos adotados na produção de mudas pelo sistema de microestaquia para *Eucalyptus* spp. podem assim ser descritos: a) as partes aéreas alongadas *in vitro* (laboratório de micropropagação) são enraizadas em casa de vegetação (permanência de 15 dias), aclimatadas em casa de sombra (permanência de 10 dias) e aos 20 dias, em pleno sol, faz-se a primeira coleta de microestacas (ápices das mudas de 3 a 5 centímetros de tamanho); b) essas microestacas coletadas são enraizadas em casa de vegetação, seguindo o processo normal de formação de mudas micropropagadas (15 dias na casa de vegetação, 10 dias na casa de sombra e 50 a 60 dias em pleno sol); c) a parte basal da muda podada (microcepa), após 15 a 20 dias emite novas brotações que serão novamente coletadas, constituindo-se num jardim microclonal para fornecimento de microestacas, em intervalos regulares de coleta.

Entre as vantagens apresentadas pela técnica de microestaquia em relação à técnica de estaquia convencional, podem ser destacados os maiores índices de enraizamento; redução do tempo de formação da muda no viveiro; redução nos investimentos em casa de vegetação devido ao menor tempo de permanência para enraizamento; eliminação do jardim clonal de campo disponibilizando a área para plantio comercial; melhor qualidade do sistema radicular e a dispensa da aplicação de reguladores de crescimento para enraizamento (XAVIER e COMÉRIO, 1996 e ASSIS, 1997).

Uma das limitações da técnica de microestaquia, segundo COMÉRIO et al. (1996) e ASSIS (1997), é a necessidade de mudas rejuvenescidas pela micropropagação, sendo dependente, portanto, da existência de laboratório de cultura de tecidos, o que pode onerar a produção de mudas, além de limitar a sua utilização, em vista das dificuldades de rejuvenescimento de algumas espécies ou clones.

2.4.4. Miniestaquia

O fato de a microestaquia depender de laboratório de cultura de tecidos para promover o rejuvenescimento dos clones selecionados limitou a implantação desta técnica na maioria das empresas florestais. Assim, nos últimos anos, a miniestaquia tornou-se uma técnica atraente na clonagem de *Eucalyptus* e a maioria das médias e grandes empresas florestais brasileiras já a implantou em nível comercial (WENDLING, 2002).

A miniestaquia em relação a microestaquia, em algumas situações pode ser considerada uma boa estratégia, uma vez que não necessita de estruturas de laboratório de cultura de tecidos, reduzindo o custo de produção das mudas e/ou sendo uma alternativa para a propagação vegetativa de certos clones que apresentam dificuldades no cultivo *in vitro*, inviabilizando sua multiplicação pela micropropagação (XAVIER e WENDLING, 1998).

A técnica de miniestaquia caracteriza-se pela utilização de brotações de plantas propagadas pelo método de estaquia convencional, como fontes de propágulos vegetativos, não promovendo previamente o seu rejuvenescimento *in vitro*, sendo as demais etapas semelhantes à técnica de microestaquia (WENDLING, 1999). Assim, basicamente a microestaquia diferencia-se da miniestaquia pela origem do material que compõe o jardim microclonal: Na microestaquia, as microcepas originam-se de

mudas micropropagadas e na miniestaquia, as minicepas iniciais são formadas de mudas propagadas pela estaquia convencional.

Após a realização do primeiro ciclo de miniestaquia, opta-se por iniciar o processo a partir de mudas originadas de miniestacas, ao invés daquelas da brotação de mudas de estacas enraizadas, podendo resultar em grandes ganhos no que diz respeito aos parâmetros de sobrevivência, enraizamento e vigor vegetativo. WENDLING (2002), considera que o rejuvenescimento, para algumas espécies ou clones, pode ser conseguido mediante a utilização da miniestaquia seriada dos propágulos vegetativos.

2.5. Desempenho silvicultural de clones de *Eucalyptus*

Numerosos testes clonais foram estabelecidos com propágulos vegetativos de coníferas em diversos países, sendo alguns destes testes avaliados em idades acima de 20 anos. Assim, em relação ao desempenho no campo de mudas produzidas a partir da propagação vegetativa versus semente, por exemplo, para *Pinus radiata*, até 15 anos de idade, utilizando propágulos vegetativos juvenis, SWEET e WELLS (1974) observaram um crescimento similar em altura e diâmetro. Alguns trabalhos evidenciam ganho com a utilização de propágulos vegetativos juvenis em relação ao originado por semente. Propágulos adultos coletados em *Pinus radiata* entre 6 e 7 anos de idade apresentaram diâmetro inferior em relação ao uso de semente, quando avaliados aos 17 anos de idade, evidenciando profundo impacto da maturação no crescimento em diâmetro (TALBERT et al., 1993). No entanto, estes testes implantados comparam os propágulos vegetativos com semente, não levando em consideração os aspectos genéticos envolvidos nos propágulos seminais.

Existem outros inúmeros trabalhos com diferentes espécies de *Pinus*, comparando propágulos de diferentes idades versus semente, onde se observa, de um modo geral, um menor desenvolvimento no crescimento em altura e diâmetro das árvores no campo, com o progresso da maturação dos propágulos vegetativos, principalmente em trabalhos realizados com a utilização de propágulos vegetativos coletados de árvores selecionadas, a partir dos 7-8 anos de idade (FRAMPTON e FOSTER, 1993).

Para o gênero *Eucalyptus*, existem alguns trabalhos que avaliam a performance da micropropagação em comparação com plantios de semente. No entanto,

conduções e avaliações de testes clonais envolvendo técnicas de propagação, como a microestaquia e miniestaquia, são escassos na literatura, visto serem técnicas desenvolvidas recentemente no Brasil.

Assim, no processo de crescimento de diferentes propágulos em teste clonal para *Eucalyptus tereticornis* e *Eucalyptus torelliana*, KHUSPE et al. (1987) comparando a técnica de micropropagação com mudas originadas de sementes, observaram aos 34 meses, um aumento na biomassa de 36,9 e 49,5% com o uso da técnica de micropropagação, respectivamente, no espaçamento de 2 x 2 metros. Em trabalhos realizados por ROCKWOOD e WARRAG (1994), avaliando a performance no campo de propágulos originados de micropropagação, macropropagação e sementes de *Eucalyptus grandis*, foram observadas, de modo geral, em avaliações realizadas dos 2 aos 57 meses, uma maior sobrevivência e um melhor desempenho em altura e diâmetro com o uso da micropropagação, tendo diferenças sido acentuadas com o aumento da idade do teste clonal.

WATT et al. (1995), em estudos realizados com híbridos de *Eucalyptus*, concluíram que, para a maioria dos clones testados aos 36 meses de idade, a altura, o *dap* e o volume das plantas provenientes de micropropagação eram significativamente maiores que as alturas das plantas provenientes da estaquia. Neste estudo, foi também constatado que as plantas micropropagadas ainda apresentaram uma uniformidade do plantio, superior às plantas estaqueadas, considerando-se os mesmos genótipos.

No Brasil, com o aperfeiçoamento da técnica de micropropagação para alguns clones de *Eucalyptus* na década de 80 e o desenvolvimento da microestaquia no início da década de 90 por ASSIS et al. (1992) e XAVIER e COMERIO (1996), a microestaquia apresentou-se, comprovadamente, mais eficiente no processo de produção de mudas clonais, com maior facilidade de propagação vegetativa em relação ao processo de estaquia, devido ao aproveitamento da juvenilidade dos propágulos originados da micropropagação.

Com o sucesso da microestaquia para produção de mudas e a possibilidade de obter ganhos no campo com o uso de propágulo mais juvenil, XAVIER et al. (1997) compararam o processo de micropropagação e microestaquia em relação ao processo de estaquia. Dos dez clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* avaliados aos 72 meses de idade, sete apresentaram desempenho melhor quando provenientes do processo de micropropagação, ou seja, o material clonal proveniente do processo de

micropropagação apresentou valores de altura, *dap* e volume, superiores em relação ao material clonal, proveniente do processo de estaquia. Quanto ao processo de microestaquia, também em comparação com o processo de estaquia, obtiveram-se, resultados comparáveis ou com ligeira superioridade pelo uso da microestaquia.

Com o surgimento da técnica de miniestaquia como uma alternativa ao uso da microestaquia na produção de mudas clonais, alguns trabalhos em viveiro, comparando ambas as técnicas, foram realizados por XAVIER et al. (2001) e TITON (2001). Eles concluíram que a técnica de microestaquia apresentou resultados superiores aos obtidos pela miniestaquia, sendo essa diferença mais pronunciada em clones com maior dificuldade de enraizamento, indicando, nesses casos, possível efeito de rejuvenescimento dos clones com o uso da microestaquia.

O uso das técnicas de microestaquia e miniestaquia representa o uso de conhecimentos relacionados ao gradiente de maturação e do rejuvenescimento no processo de propagação de mudas de *Eucalyptus*, em que ganhos em fase de viveiro, já estão bem definidos. Ganhos obtidos no campo, com o uso de propágulos vegetativos mais juvenis e com o uso da micropropagação e possíveis ganhos com a microestaquia em comparação com a técnica de estaquia foram citados por XAVIER et al. (1997). No entanto, a implantação de teste clonal no campo com uso de propágulos vegetativos, com diferentes graus de juvenilidade (estaquia, micropropagação, microestaquia e miniestaquia) é escassa na literatura, podendo representar um melhor entendimento dos efeitos do gradiente de juvenilidade e do rejuvenescimento em clones de *Eucalyptus* selecionados aos sete anos de idade. Obtém-se assim, uma melhor interpretação de teste clonal e uma redução de possíveis efeitos que afetem a repetibilidade de um determinado clone, além da confirmação dos possíveis ganhos obtidos com o uso de propágulos mais juvenis.

Resultados de campo, também podem contribuir muito para a tomada de decisão sobre o uso de uma determinada técnica em detrimento de outra, visando a confirmação da melhor estratégica a ser adotada, pois em condições de viveiro, a técnica de microestaquia mostrou-se superior à técnica de miniestaquia, principalmente no que tange a clones de baixo enraizamento. Por outro lado, existem clones com grande facilidade de propagação vegetativa e procedimentos mais simples e de menor custo, como a estaquia e a miniestaquia podem ser uma alternativa viável (XAVIER et al., 2001).

Desta forma, as técnicas que apresentam potencial no rejuvenescimento de clones têm apresentado oportunidades na clonagem massal de genótipos superiores, principalmente nos casos de clones de difícil enraizamento pela técnica de estaquia convencional, tornando-os aptos economicamente ao processo de produção de mudas, sendo necessária dar continuidade aos estudos, visando obter dados sobre a performance silvicultural de clones, propagados por macro e micropropagação (SANTOS, 2003).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, H. B. **Eficiência dos experimentos com clones na cultura de eucalipto**. Lavras, MG: UFLA, 2002. 162 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2002.

ASSIS, T. F.; ROSA, O. P.; GONÇALVES, S. I. Propagação por microestaquia. In: CONGRESSO FLORESTAL ESTADUAL, 7., 1992, Nova Prata. **Anais...** Santa Maria, RS: UFSM, 1992. p. 824-836.

ASSIS, T. F. Melhoramento genético do eucalipto. **Informe Agropecuário**, v. 18, n. 185, p. 32-51, 1996.

ASSIS, T. F. Propagação vegetativa de *Eucalyptus* por microestaquia. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPTUS, 1997, Salvador. **Proceedings...** Colombo: EMBRAPA, 1997. v. 1, p. 300-304.

BERTOLUCCI, F. L. G.; REZENDE, G. D. S. P.; PENCHEL, R. M. Produção e utilização de híbridos de eucalipto. **Silvicultura**. v.7, n.51. p.12-16, 1993.

BOLIANI, A. C. **Efeitos do estiolamento basal, da juvenilidade e do uso de um regulador vegetal no enraizamento de estacas de raízes e de ramos herbáceos de algumas espécies frutíferas**. Piracicaba, SP: ESALQ, 1986. 129 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, 1986.

BONGA, J. M. Vegetative propagation in relation to juvenility, maturity and rejuvenation. In: BONGA, J. M.; DURZAN, D. J. (Eds.). **Tissue culture in forestry**. Boston: Martinus Hijhoff/Dr W.; Junk Publishers, 1982. p. 387-412.

BONGA, J. M.; VON ADERKAS, P. *in vitro* **culture of trees**. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1992. 236 p.

CHAPERON, H. Vegetative propagation of *Eucalyptus*. In: SIMPÓSIO SOBRE SILVICULTURA Y MEJORAMIENTO GENÉTICO DE ESPÉCIES FORESTALES, 1987, Buenos Aires, Argentina. **Anales...** [S.l.]: AFOCEL, [1987]. p. 215-232, 1987.

COMÉRIO, J.; XAVIER, A.; IANELLI, C. M. Microestaquia: um novo sistema de produção de mudas de *Eucalyptus* na Champion. In: ENCONTRO TÉCNICO FLORESTAL, 7., 1996, Belo Horizonte. **Anais...** Piracicaba, SP: ABRACAVE, 1996. 6 p.

ELDRIDGE, K.; DAVIDSON, J.; HARDWIID, C.; Van WYK, G. **Eucalypt domestication and breeding**. Oxford: Clarendon Press, 1994. p. 228-246.

FONTANIER, E. J.; JONKERS, H. Juvenility and maturity of plants as influenced by their ontogenetical and physiological aging. **Acta horticulturae**, v.56, p. 37-44, 1976.

FOUDA, R. A. Anatomical characteristics of juvenile and adult shoots associated with rooting ability of *Cupressocyparis leylandii* cuttings. In: Horticultural Science, University of Horticulture and Food, 1996, Budapest. **Journal article...** Budapest: University of Horticulture and Food, 1996. v.28, p. 107-111.

FRAMPTON, L. J.; FOSTER, G. S. Field testing vegetative Propagules. In: AHUJA, M. R.; LIBBY, W. J. (Eds.). **Clonal forestry: genetics and biotechnology**. Budapest: Springer-Verlag, 1993. p. 110-134.

GOMES, A. L. **Propagação clonal: princípios e particularidades**. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 1987. 69 p. (Série Didáctica, Ciências Aplicadas, 1).

GONÇALVES, A. N. **Reversão à juvenilidade e clonagem de *Eucalyptus urophylla*. S. T. in vitro**. Piracicaba, SP: ESALQ, 1982. 97 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP, 1982.

GONÇALVES, F.; REZENDE, G.D.S.P.; BERTOLUCCI, F.L.G.; RAMALHO, M.A.P. Progresso genético por meio de seleção de eucalipto em plantios comerciais. **Revista Árvore**, Viçosa, v.25, n.3, p.295-301, 2001.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C., CALDAS, L.S., BUSO, J.A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI / EMBRAPA-CMPH, 1998. p.183-260.

GREENWOOD, M. S.; HUTCHISON, K. W. Maturation as an developmental process. In: SYMPOSIUM IN IUFRO'S CENTENNIAL YEAR – MASS PRODUCTION TECHNOLOGY FOR GENETICALLY IMPROVED FAST GROWING FOREST TREE SPECIES, 1992, Bordeaux. **Syntheses...** Paris: AFOCEL, IUFRO, 1992. p.38-44.

- GREENWOOD, M. S.; HUTCHISON, K. W. Maturation as an developmental process. In: AHUJA, M. R.; LIBBY, W. J. (Eds.) **Clonal forestry I: genetics and biotechnology**. Budapest: Springer-Verlag, 1993. p. 14-33.
- GUIMARÃES, M. P.; CORREIA, F.; COUCEL, F. Integração de um laboratório de micropropagação de *Eucalyptus globulus* no viveiro de uma empresa do setor papelero português. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPTS, 1997, Salvador. **Proceedings...** Colombo: EMBRAPA, 1997. v.4, p.79.
- HACKETT, W. P. Donor plant maturation and adventitious root formation. In: DAVIES, T.D.; HAISSIG, B.E.; SANKHLA, N. (Eds.). **Adventitious root formation in cuttings**. Portland: Dioscorides Press, 1987. p. 11–28 (Advances in Plant Sciences Series, 2).
- HACKETT, W. P.; MURRAY, J. R. Maturation and rejuvenation in woody species. In: AHUJA, M. R. (Ed.). **Micropropagation of woody plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1993. p. 93-105.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 6. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1997. 770 p.
- KERBAUY, G. B. Competência e determinação celular em cultura de células e tecidos de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1999. v.2. p. 519–531.
- KHUSPE, S. S.; GUPTA, P. K.; KULKARNI, D. K.; MEHTA, U.; MASCARENHAS, A. F. Increased biomass production by tissue culture of *Eucalyptus*. **Can. J. For. Res.** v.17, p.1361-1363, 1987.
- LANDIS, E.; JONES, N.; SMYLE, J. **Commercial applications of cloning for forest plantations**. (s.l.:s.n.), 1992. 15p. (Land Resources Series Ásia Technical Department, 5) (CD-ROM. Abstract).
- LIBBY, W. J.; AHUJA, M. R. The genetics of clones. In: AHUJA, M. R.; LIBBY, W. J., (Eds.). **Clonal forestry I. Genetics and biotechnology**: Berlin: Springer-Verlag, 1993. p.5-13.
- MACRAE, S.; COTTERILL, P. P. Macropropagation and micropropagation of *Eucalyptus globulus*: means of capturing genetic gain. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPTS, 1997, Salvador. **Proceedings...** Colombo: EMBRAPA, 1997. v.4, p.102-110.
- MALAVASI, U. C. Macropropagação vegetativa de coníferas – perspectivas biológicas e operacionais. **Revista Floresta e Ambiente**, v.1, n.1, p. 131-35, 1994.
- PAIVA, H. N.; GOMES, J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Viçosa, MG: UFV, 1995. 40p. (Boletim, 322).

- ROCKWOOD, D. L.; WARRAG, E. I. Field performance of micropropagated, macropropagated, and seed-derived propagules of three *Eucalyptus grandis* ortets. **Plant Cell Reports**. v.13, p.628-631, 1994.
- SANTOS, A. P. **Avaliação silvicultural de clones de *Eucalyptus* spp. propagados por macro e micropropagação**. Viçosa, MG: UFV, 2003, 51 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2003.
- SANTOS, P. E. T. O uso da clonagem na silvicultura intensiva. **Revista Silvicultura**, v.15, n.57, p. 28-30, 1994.
- SILVA, J. Melhoramento genético para a qualidade da madeira. **Revista da Madeira**. p.48-54, 2001. (Edição especial – Eucalipto: a madeira do futuro).
- SWEET, G. B.; WELLS, L. G. Comparison of the growth of vegetative propagules and seedlings of *Pinus radiata*. **N. Z. J. For. Sci.** 4: 399-409, 1974.
- TALBERT, C. B.; RITCHIE, G. A.; GUPTA, P. Conifer Vegetative Propagation: an overview from a commercialization perspective. In: AHUJA, M. R.; LIBBY, W. J. (Eds.). **Clonal forestry I: genetics and biotechnology**. Budapest: Springer-Verlag, 1993. p. 146-181.
- TITON, M. **Propagação clonal de *Eucalyptus grandis* por miniestaquia e microestaquia**. Viçosa, MG: UFV, 2001, 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.
- WATT, M. P.; DUNCAN, M. Ing.; BLAKEWAY, F. C.; HERMAN, B. Field performance of micropropagated *Eucalyptus* hybrids. **South African Forestry Journal**, n. 173, p. 17-21, 1995.
- WENDLING, I. **Propagação clonal de híbridos de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia**. Viçosa, MG: UFV, 1999, 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1999.
- WENDLING, I.; XAVIER, A. Gradiente de maturação e rejuvenescimento aplicado a espécies florestais. **Revista Floresta e Ambiente**. v.8. n.1, p.187-194. 2001
- WENDLING, I. **Rejuvenescimento de clones de *Eucalyptus grandis* por miniestaquia seriada e micropropagação**. Viçosa, MG: UFV, 2002, 99 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2002.
- XAVIER, A.; COMÉRIO, J. Microestaquia: uma maximização da micropropagação de *Eucalyptus*. **Revista Árvore**, v.20, n.1, p. 9-16, 1996.
- XAVIER, A.; COMÉRIO, J.; IANNELLI, C. M. Eficiência da estaquia, da microestaquia e da micropropagação na clonagem de *Eucalyptus* spp. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF *Eucalyptus*. **Proceedings...** Colombo, PR: EMBRAPA, 1997. v. 2, p. 40-45.

XAVIER, A.; WENDLING, I. **Miniestaquia na clonagem de *Eucalyptus***. Viçosa, MG: SIF, 1998. 10 p. (Informativo Técnico SIF, 11).

XAVIER, A.; ANDRADE, H. B.; OLIVEIRA, M. L.; WENDLING, I. Desempenho do enraizamento de microestacas e miniestacas de clones de híbrido de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v. 25, n. 4, p. 403-411, 2001.

XAVIER, A. **Silvicultura Clonal I**: princípios e técnicas de propagação vegetativa. Viçosa, MG: UFV, 2002, 64p. (Cadernos Didáticos, 92).

ZOBEL, B.; TALBERT, J. **Applied forest tree improvement**. New York: North Carolina State University, 1984. 505 p.

EFEITO DA ESTAQUIA, MINIESTAQUIA, MICROESTAQUIA E MICROPROPAGAÇÃO NO DESEMPENHO SILVICULTURAL DE CLONES DE *Eucalyptus grandis*

RESUMO - O presente trabalho objetivou avaliar o desempenho de quatro clones de *Eucalyptus grandis*, propagados pelas técnicas de estaquia, micropropagação, microestaquia e miniestaquia, quanto às características de crescimento em altura e *dap*, bem como a produção de biomassa da parte aérea. De acordo com os resultados obtidos verificou-se na fase inicial do teste clonal, aos 4 e 8 meses de idade, um melhor desempenho das técnicas de micropropagação e microestaquia em relação a miniestaquia e estaquia para alguns clones, no que tange ao crescimento em altura, *dap* e a biomassa da parte aérea. Entretanto, alguns clones mostraram resultados similares na miniestaquia em relação a micropropagação e microestaquia e com ligeira superioridade à estaquia. Por outro lado, as avaliações realizadas aos 24 meses de idade indicaram tendências de uniformidade dos resultados entre as técnicas de propagação clonal com o avanço da idade do teste clonal.

Palavras-chave: Clonagem, propagação vegetativa e silvicultura clonal.

EFFECT OF THE CUTTING, MINICUTTING, MICROCUTTING AND MICROPROPAGATION TECHNIQUES IN THE SILVICULTURAL PERFORMANCE OF *Eucalyptus grandis* CLONES

ABSTRACT - The objective of the present study was to evaluate the performance of four *Eucalyptus grandis* clones, propagated by the cutting, micropropagation, microcutting and minicutting techniques, concerning the height and diameter growth characteristics, as well as the aerial biomass production. According to the obtained results, in the cloning test beginning, at 4 and 8 months old, there was a better performance of the micropropagation and microcutting techniques, concerning the growth height, diameter, and aerial biomass. However, some clones showed similar results in the minicutting in relation to the micropropagation and microcutting, with a slight superiority to the cutting. On the other hand, the evaluations done at 24 months old, showed tendencies of a uniformity in the results among the cloning propagating techniques with the cloning test age advance.

Key words: Cloning, vegetative propagation and clonal forestry.

1. INTRODUÇÃO

A propagação vegetativa de *Eucalyptus* no Brasil, em escala comercial, iniciou-se com a implementação da técnica de estaquia em meados da década de 70 (Ikemori, 1975). A importância do gênero *Eucalyptus* no setor florestal brasileiro estimulou consideráveis investimentos em pesquisas, culminando com o desenvolvimento das técnicas de microestaquia e miniestaquia, adotadas recentemente pela maioria das empresas florestais.

O sucesso da microestaquia e miniestaquia na propagação vegetativa de *Eucalyptus* deve-se em parte, ao conhecimento do processo de maturação que geralmente afeta as espécies lenhosas, de acordo com o seu desenvolvimento ontogenético. Uma das mais importantes conseqüências para a clonagem é a redução ou até mesmo a perda da capacidade de enraizamento que são verificadas em plantas adultas (Gomes, 1987; Greenwood e Hutchison, 1992; Libby e Ahuja, 1993). Assim, as técnicas de microestaquia e miniestaquia foram desenvolvidas com a filosofia de reduzir ao máximo, os efeitos negativos da maturação no enraizamento, a partir da utilização de propágulos juvenis.

Ganhos obtidos em viveiro com a utilização de propágulos vegetativos mais juvenis com o uso da técnica de microestaquia em comparação com a técnica de estaquia convencional são evidenciados por Assis (1992), Xavier e Comerio (1996). Esses pesquisadores observaram que o uso do material juvenil proporcionou um melhor desempenho no enraizamento, na qualidade do sistema radicular, na velocidade de emissão das raízes e na redução das atividades operacionais.

Fundamentados nesta filosofia, Xavier et al. (2001) e Titon (2001) concluíram que a técnica de microestaquia apresentou resultados superiores aos obtidos pela miniestaquia, sendo essa diferença mais pronunciada em clones com maior dificuldade de enraizamento, indicando, nesses casos, possível efeito de rejuvenescimento dos clones com o uso da microestaquia. Na técnica de microestaquia, os propágulos vegetativos (microestacas) originam-se de mudas rejuvenescidas através da micropropagação seriada, realizada em laboratório de cultura de tecidos. Isto determina uma maior redução do efeito de clonagem em comparação a técnica de miniestaquia, em que os propágulos vegetativos (miniestacas) são obtidos inicialmente de mudas propagadas pela técnica de estaquia convencional, com maior grau de maturação.

O desenvolvimento das técnicas de microestaquia e miniestaquia representa o uso de conhecimentos relacionados ao gradiente de maturação e do rejuvenescimento no processo de produção de mudas de *Eucalyptus*, em que ganhos em fase de viveiro estão bem evidenciados. No entanto, segundo Greenwood e Hutchison (1993) e Higashi et al. (2000), propágulos derivados de um mesmo genótipo, porém com diferentes graus de maturação, têm desempenho diferenciado quando estabelecidos em condições de campo, levando à possibilidade de ganhos com a utilização de propágulos com maior grau de juvenilidade.

Em trabalhos realizados por Rockwood e Warrag (1994) e Watt (1995), observou-se de modo geral, uma melhor performance no campo de mudas formadas a partir da técnica de micropropagação, em comparação com a técnica de macropropagação, em diferentes espécies de *Eucalyptus*. A utilização da técnica de micropropagação proporcionou, de maneira geral, maior sobrevivência, melhor desempenho em altura e diâmetro e maior uniformidade no plantio, em diferentes idades de avaliação em teste clonal.

XAVIER et al. (1997) obtiveram resultados superiores em crescimento em altura, *dap* e volume com o uso de propágulos vegetativos provenientes do processo de micropropagação em relação ao material clonal proveniente do processo de estaquia convencional, para a maioria dos clones, avaliados aos 72 meses de idade. Também em comparação com o processo de estaquia, os mesmos autores obtiveram resultados comparáveis ou com ligeira superioridade pelo uso da microestaquia.

A implantação de teste clonal no campo com o uso de propágulos vegetativos com diferentes graus de juvenilidade (estaquia, micropropagação, microestaquia e miniestaquia) é escassa na literatura e pode representar um melhor entendimento dos efeitos do gradiente de juvenilidade e do rejuvenescimento em clones de *Eucalyptus* selecionados em idade adulta. Obtêm-se assim, uma melhor interpretação de testes clonais e redução de possíveis efeitos sobre a repetibilidade de um determinado clone produzido a partir do uso de propágulos mais juvenis.

Em detrimento dessas colocações, aliados ao recente desenvolvimento da técnica de miniestaquia, tornam-se imprescindíveis estudos nesta linha do conhecimento. Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar o desempenho de quatro clones de *Eucalyptus grandis* propagados pelas técnicas de estaquia, miniestaquia, microestaquia e micropropagação, quanto às características de crescimento em altura

e diâmetro, bem como a produção de biomassa da parte aérea, em condições de teste clonal de campo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do presente estudo, foram utilizados um teste clonal e uma parcela experimental, conduzidos pela empresa Celulose Nipo-Brasileira S.A – CENIBRA, localizada no município de Belo Oriente, na região do Vale do Rio Doce, Minas Gerais.

A área experimental apresenta precipitação média anual de 1233 mm, com temperatura média anual de 21 °C, sendo a máxima de 27 °C e a mínima de 14 °C. O clima do tipo Cwa (subtropical, chuvoso e mesotérmico), segundo a classificação de Köppen, latitude 19°18'23''S e longitude 42°22'46''W e uma altitude média de 363 m (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.- IBGE, 1969).

Os materiais genéticos utilizados foram quatro clones de *Eucalyptus* spp., sendo dois de *Eucalyptus grandis* (C1 e C2) e dois híbridos de *Eucalyptus grandis* (Rio Claro) (C3 e C4). As mudas utilizadas para a instalação do teste clonal e da parcela experimental foram obtidas por meio de propagação vegetativa, pelas técnicas de estaquia, micropropagação, microestaquia e miniestaquia, de acordo com os procedimentos descritos nos itens subseqüentes.

2.1. Obtenção das mudas clonais

As mudas obtidas pela técnica de estaquia foram produzidas a partir de estacas caulinares, variando de 8 a 10 cm de comprimento, oriundas de jardim clonal instalado em área de campo. Essas mudas foram enraizadas em casa de vegetação (permanência de 30 dias), com a aplicação na base das mesmas, do regulador de crescimento ácido indolbutírico (AIB), na concentração de 4.000 mg L⁻¹. Posteriormente, as estacas enraizadas foram aclimatadas em casa de sombra, com sombrite 50% (permanência de 10 dias) e rustificadas a pleno sol, até os 90 dias de idade.

A produção das mudas pela técnica de microestaquia foi obtida pelo enraizamento de microestacas, com dimensões variando de 4 a 6 cm de comprimento, coletadas em jardim microclonal, localizado em condição coberta. Essas miniestacas foram formadas a partir de microcepas oriundas da micropropagação. O enraizamento ocorreu em casa de vegetação com a permanência de 25 dias. Posteriormente,

as microestacas foram transferidas para casa de sombra, com sombrite 50% com permanência de 8 dias para aclimação. Finalmente, permaneceram a pleno sol até 75 dias de idade. Na técnica de miniestaquia, as mudas foram produzidas pelo enraizamento de miniestacas, que foram coletadas no jardim miniclonal, formado a partir de mudas advindas da técnica de estaquia. Tendo as demais etapas, seguido os mesmos procedimentos da técnica de microestaquia.

As mudas micropropagadas foram obtidas após a micropropagação seriada a partir da proliferação de gemas axilares. Os clones passaram por 10 a 12 subcultivos em meio de cultura adequado, com a finalidade de obter o rejuvenescimento. Após o alongamento das gemas *in vitro*, estas foram transplantadas para casa de vegetação, para o enraizamento *ex vitro*, em tubetes plásticos de 55 cm³ de capacidade, contendo substrato constituído de partes iguais de vermiculita de granulometria média e casca de arroz carbonizado. Essa fase foi realizada no Laboratório de Cultura de Tecidos II do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) e no Viveiro de Pesquisas Florestais do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG.

A nutrição mineral utilizada na formação das mudas micropropagadas foi composta por superfosfato simples em mistura no substrato (8 kg m⁻³) e pela nutrição complementar composta pela solução de sulfato de amônio (20g L⁻¹), cloreto de potássio (3,33 g L⁻¹), sulfato de zinco (0,22 g L⁻¹), sulfato de cobre (0,22 g L⁻¹), sulfato de manganês (0,22 g L⁻¹) e ácido bórico (0,39 g L⁻¹), sendo aplicados 2,5 mL dessa solução para cada tubete (2 vezes por semana). Essas mudas foram transferidas para o viveiro da empresa, onde receberam a mesma adubação das mudas propagadas pelas outras técnicas (estaquia, miniestaquia e microestaquia), por um período de três semanas antes do plantio.

Para a formação das mudas por estaquia, microestaquia e miniestaquia, foram utilizados, como recipientes, tubetes plásticos de 55 cm³ de capacidade, contendo substrato constituído de partes iguais de vermiculita de granulometria média e casca de arroz carbonizada. A nutrição mineral foi composta por superfosfato simples (8 kg m⁻³) em mistura no substrato e pela nutrição complementar composta pela solução de sulfato de amônio (18 g L⁻¹), cloreto de potássio (3,33 g L⁻¹), sulfato de zinco (0,22 g L⁻¹), sulfato de cobre (0,22 g L⁻¹) e ácido bórico (0,39 g L⁻¹), sendo aplicados 2,5 mL dessa solução por tubete (2 vezes por semana).

2.2. Tratamentos e delineamento experimental

Foi instalado um teste clonal seguindo o delineamento de blocos ao acaso, no esquema de parcela subdividida (clone e técnica de propagação), com 8 repetições e parcelas lineares de 4 plantas, obedecendo ao espaçamento de 3 x 3 metros. A parcela experimental foi instalada com parcelas de 10 plantas x 7 linhas, num total de 70 plantas por técnica de propagação, por clone, segundo o esquema de amostragem seletiva.

Para ambos os experimentos, o solo foi preparado por meio de subsolagem a 50 cm de profundidade, sendo aplicados 400 kg ha⁻¹ de fosfato reativo no sulco. No momento do plantio, o sistema radicular das mudas foi imerso em uma solução de 1,5% de fosfato monoamônio (MAP). Após o plantio, foi aplicada uma irrigação de 4 L de água por cova. Entre 10 a 25 dias após o plantio foi realizada uma adubação suplementar com 90 g por planta de NPK (06-30-06) aplicados em coveta lateral e, após 90 dias, foram aplicados 300 kg ha⁻¹ de KCl + 1,5% de Boro.

2.3. Avaliações

As avaliações no teste clonal e na parcela experimental foram realizadas aos 4, 8, 16 e 24 meses de idade, a contar da data de implantação do experimento, de acordo com o teste. No teste clonal, foram mensuradas as características de crescimento em altura e diâmetro à altura do peito (*dap*), de todos os indivíduos dentro de cada parcela, sendo as avaliações do *dap* realizadas a partir da terceira avaliação (16 e 24 meses de idade). Quanto à parcela experimental, foram realizadas avaliações no comportamento das técnicas de propagação em relação ao crescimento da parte aérea das árvores, obtendo a biomassa foliar dos galhos e tronco, a partir de três árvores médias representativas da parcela.

Para a obtenção da biomassa das folhas e dos galhos, as árvores abatidas foram desgalhadas rente ao tronco, desfolhadas e eliminados os galhos e as folhas secas. Em seguida, foi obtida a biomassa úmida e retirada uma amostra de aproximadamente 300 gramas, que foi colocada em estufa, na temperatura de 70°C, até obter peso de matéria seca constante, para posteriormente ser obtido o peso da matéria seca foliar e dos galhos.

Logo após ser desgalhado, o tronco foi dividido em três segmentos iguais em comprimento, obteve-se a biomassa úmida e foi retirada uma amostra de mesmo comprimento (2 cm) em cada seção, constituindo-se de três amostras por tronco por árvore. Foi preparado o peso de matéria seca das amostras e posteriormente o peso da matéria seca do lenho, conforme procedimentos adotados para biomassa foliar e dos galhos.

Os dados resultantes foram analisados por meio de análise de variância, testes de médias (Teste de Tukey) a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa SAEG (Sistema para Análises Estatísticas), da Universidade Federal de Viçosa, MG.

Nas avaliações das características aos 4 e 8 meses de idade, foram utilizados os dados obtidos por SANTOS (2003). Também vale salientar que devido a restrições na produção de mudas, o tratamento referente à técnica de estaquia para o clone C3, no teste clonal, assim como, os tratamentos referentes às técnicas de micropropagação para os clones C1 e C2 e estaquia para o clone C3 na parcela experimental, não foram incluídos nesta experimentação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Crescimento em altura

No que tange ao crescimento em altura das plantas, verificaram-se efeitos significativos com relação às técnicas de propagação, cujas respostas variaram com o material genético e a idade da planta (Figura 1).

Verifica-se para os clones C1 e C2, um comportamento similar entre as técnicas de propagação com o aumento da idade do teste clonal. Assim, o melhor desempenho em altura das plantas com a micropropagação e microestaquia em relação à técnica de estaquia convencional, para o clone C1, aos 8 meses e para o clone C2, aos 4 e 8 meses de idade, não foi observado aos 16 e 24 meses. No entanto, para o clone C4, piores resultados com a estaquia convencional permaneceram com o aumento da idade do teste clonal. Resultados melhores com o uso da micropropagação em relação à estaquia foram obtidos por Rockwood e Warrag (1994), Watt et al. (1995) e Xavier et al. (1997). No entanto, contrário ao observado para o clone C1 e C2, Rockwood e Warrag (1994) verificaram um crescimento das diferenças com o aumento da idade do teste clonal.

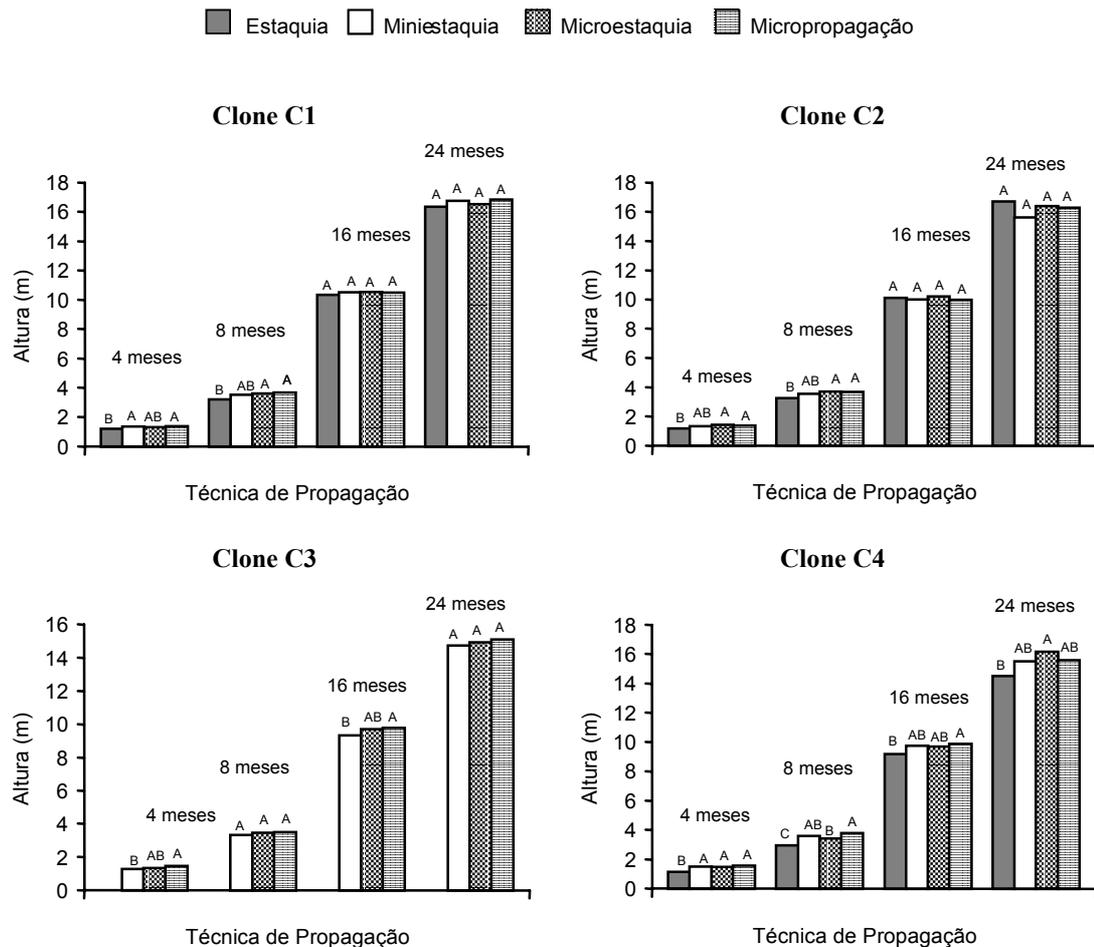


Figura 1 – Médias do crescimento em altura aos 4, 8, 16 e 24 meses, em função da técnica de propagação dos quatro clones de *Eucalyptus* spp. Médias seguidas de uma mesma letra dentro de cada idade entre as técnicas de propagação para cada clone, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O ganho inicial de crescimento em altura para os clones C1, C2 e C4 com a utilização das técnicas de micropropagação e microestaquia em relação à técnica de estaquia pode ser atribuído ao maior grau de juvenildade dos propágulos obtidos, advindo do rejuvenescimento pelos subcultivos *in vitro*, conforme citado por Chaperon (1987) e Hackett (1987). Às mudas propagadas pelas técnicas de micropropagação e microestaquia são provenientes de propágulos vegetativos herbáceos e apicais, enquanto as mudas propagadas pela estaquia, são confeccionadas a partir de estacas semi-lenhosas e intermediárias com maior grau de maturação e diferenciação celular.

Com relação à performance das técnicas de micropropagação, microestaquia e miniestaquia, observa-se, de modo geral, para os clones C1, C2 e C4, a não ocorrência de variações significativas entre essas técnicas, indicando uma baixa diferença de juvenilidade entre os propágulos vegetativos, sendo as diferenças fisiológicas e ontogenéticas entre os propágulos, insuficientes para expressar diferenças no crescimento em campo.

Para o clone C3, não se observou um comportamento definido das técnicas de micropropagação, microestaquia e miniestaquia com a idade. Os melhores resultados obtidos com o uso da micropropagação aos 4 e 16 meses em comparação com a miniestaquia não foram observados aos 8 e 24 meses.

A superioridade da micropropagação em relação à técnica de miniestaquia para idades de 4 e 16 meses, para o clone C3, pode ser atribuída ao maior grau de juvenilidade dos propágulos obtidos, advinda do rejuvenescimento pelos subcultivos *in vitro*. Titon (2001), avaliando o mesmo material genético, observou um melhor enraizamento das microestacas em relação as miniestacas, associando este desempenho a um possível rejuvenescimento das mudas produzidas pela micropropagação, visto que, nas três técnicas, as mudas são provenientes de um mesmo padrão de vigor fisiológico (propágulos vegetativos herbáceos e apicais), ou seja, estacas com o mesmo padrão de tamanho, consistência e grau de diferenciação celular (Santos, 2003).

De maneira geral, pode-se concluir que o crescimento em altura indicou certa tendência de repostas similares entre as técnicas de propagação avaliadas com o avanço da idade do teste clonal, exceto para o clone C4, onde a estaquia apresentou um comportamento inferior.

3.2. Crescimento em diâmetro (*dap*)

No que tange ao crescimento em diâmetro (*dap*) das plantas avaliadas aos 16 e 24 meses de idade, verifica-se de modo geral, resposta variável da técnica de propagação de acordo com o clone e a idade do teste clonal (Figura 2).

Verificam-se, de modo geral, para alguns clones, resultados similares para a variável altura. Assim, um melhor desempenho da micropropagação e microestaquia em relação à estaquia para o clone C2 aos 16 meses, não foi observado em idade mais avançada. Para o clone C4, os menores valores observados para a estaquia convencional permaneceram com o aumento da idade do teste clonal.

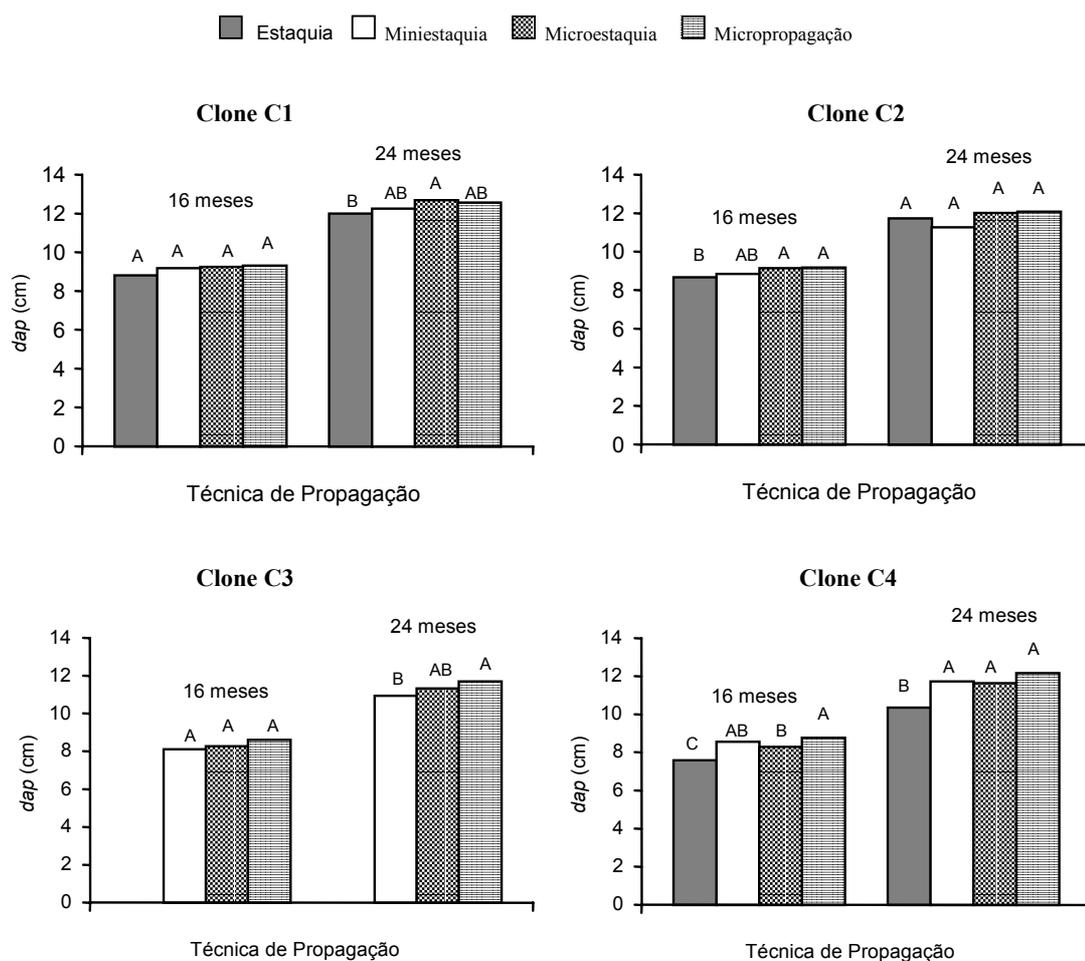


Figura 2 – Médias de crescimento em diâmetro (*dap*) aos 16 e 24 meses, em função da técnica de propagação dos quatro clones de *Eucalyptus* spp. Médias seguidas de uma mesma letra dentro de cada idade entre as técnicas de propagação para cada clone não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para o clone C3, também conforme a altura, ainda não se observa um comportamento definido das técnicas de propagação. Melhores resultados com o uso da micropropagação em comparação com a miniestaquia observados aos 24 meses não foram evidenciados aos 16 meses de idade. Entretanto, para o clone C1, observou-se comportamento contrário à variável altura, verificando-se diferença entre as técnicas de propagação com o avanço da idade do teste clonal.

No entanto, as diferenças observadas em determinada idade evidenciaram, de modo geral, valores superiores com a utilização da técnica de micropropagação e microestaquia, seguidos posteriormente pela miniestaquia e por último, pela técnica de estaquia, indicando diferentes níveis de juvenildade dos propágulos vegetativos.

Resultados similares foram obtidos por ROCKWOOD e WARRAG (1994), WATT (1995) e XAVIER et al. (1997), cujos valores de altura e diâmetro à altura do peito (*dap*), de modo geral, apresentaram uma melhor performance no campo de mudas formadas pela técnica de micropropagação, em comparação com a técnica de macropropagação, em diferentes espécies de *Eucalyptus*. No entanto, estas diferenças foram observadas em idades mais avançadas, tendência essa não observada para os materiais genéticos avaliados neste trabalho.

3.3. Biomassa da parte aérea

A interferência das técnicas de propagação clonal na partição da biomassa para a parte aérea das plantas é muito importante para a tomada de decisões quanto à seleção de materiais genéticos e técnicas de manejo a serem adotadas na condução do povoamento, principalmente a biomassa alocada para o tronco, visto que, de modo geral, é o componente da árvore explorado comercialmente.

De acordo com o Quadro 1, o peso da matéria seca das folhas, galhos e lenho apresentaram, para alguns clones, respostas variadas em relação as técnicas de propagação e à idade de avaliação. Cabe ressaltar que os coeficientes de variação experimental para as características avaliadas ficaram entre 16% e 27%, justificando de certa forma, as respostas variadas apresentadas pelos clones, entre as técnicas de propagação.

Observa-se uma uniformização para peso da matéria seca das folhas com o avanço da idade da parcela experimental, para todos os clones avaliados. Desta forma, respostas, a princípio inconsistentes, com resultados inferiores à utilização da técnica de miniestaquia em relação à estaquia para o clone C1, aos 8 meses, e piores resultados da microestaquia para o clone C3, aos 4 meses e C4, aos 16 meses, em relação à micropropagação, não foram observados com o aumento da idade da planta.

Em relação ao peso da matéria seca dos galhos, não se verificaram diferenças entre as técnicas de propagação, exceto para o clone C2 aos 4 meses, que apresentou melhores resultados com o uso da micropropagação e microestaquia do que com a estaquia. No entanto, conforme a biomassa das folhas esta diferença não foi observada com o avanço da idade das plantas.

Quadro 1 – Médias do peso de matéria seca da parte aérea aos 4, 8, 16 e 24 meses, em função da técnica de propagação dos quatro clones de *Eucalyptus* spp. Médias seguidas de uma mesma letra dentro da variável entre as técnicas de propagação não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Clone	Técnica de Propagação	Peso de Matéria Seca da Parte Aérea (kg)															
		Folha				Galho				Lenho				Total			
		Idade (meses)				Idade (meses)				Idade (meses)				Idade (meses)			
		4	8	16	24	4	8	16	24	4	8	16	24	4	8	16	24
C1	T1	0,13 a	1,31 a	4,27 a	3,56 a	0,06 a	0,80 a	4,32 a	4,34 a	0,05 b	0,53 a	10,84 a	29,50 a	0,24 a	2,63 a	19,40 a	37,40 a
	T2	0,16 a	1,07 b	4,57 a	3,34 a	0,08 a	0,79 a	4,81 a	4,60 a	0,05 b	0,50 a	12,71 a	33,20 a	0,29 a	2,36 a	22,10 a	41,10 a
	T3	0,18 a	1,16 ab	5,47 a	4,27 a	0,09 a	0,88 a	5,45 a	6,32 a	0,08 a	0,57 a	14,71 a	38,90 a	0,34 a	2,61 a	25,60 a	49,50 a
	T4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C2	T1	0,09 a	0,82 a	3,90 a	2,57 a	0,03 b	0,53 a	4,07 a	3,61 a	0,02 b	0,50 b	10,57 b	24,27 a	0,16 b	1,84 a	17,60 a	30,40 a
	T2	0,15 a	1,03 a	4,03 a	2,91 a	0,07 a	0,83 a	4,53 a	4,21 a	0,06 a	0,65 ab	12,25 ab	30,15 a	0,27 ab	2,50 a	19,50 a	37,30 a
	T3	0,17 a	1,26 a	4,44 a	3,44 a	0,08 a	0,71 a	4,82 a	5,00 a	0,07 a	0,80 a	13,35 a	29,22 a	0,31 a	2,77 a	19,60 a	37,70 a
	T4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C3	T1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	T2	0,45 ab	1,32 a	3,93 a	3,52 a	0,06 a	0,99 a	5,06 a	7,65 a	0,03 a	0,45 b	8,52 a	29,17 a	0,23 ab	2,76 a	17,60 a	40,40 a
	T3	0,12 b	1,53 a	4,34 a	4,09 a	0,05 a	1,03 a	6,02 a	8,61 a	0,03 a	0,53 ab	9,60 a	31,93 a	0,20 b	0,31 a	19,90 a	44,60 a
	T4	0,21 a	1,53 a	4,42 a	2,69 a	0,08 a	1,14 a	7,89 a	5,57 a	0,04 a	0,65 a	10,94 a	27,51 a	0,32 a	0,33 a	23,30 a	35,77 a
C4	T1	0,24 a	1,63 a	5,53 ab	3,28 a	0,07 a	1,08 a	6,33 a	5,14 a	0,04 a	0,53 c	10,50 a	24,73 a	0,35 a	3,24 b	22,40 a	33,20 a
	T2	0,33 a	1,97 a	5,34 ab	5,00 a	0,12 a	1,43 a	5,77 a	6,57 a	0,05 a	0,83 b	12,10 a	32,37 a	0,50 a	4,23 ab	23,20 a	43,90 a
	T3	0,28 a	2,34 a	4,89 b	3,78 a	0,10 a	1,68 a	5,87 a	5,57 a	0,05 a	1,01 a	12,17 a	32,27 a	0,44 a	5,03 a	22,90 a	41,60 a
	T4	0,24 a	1,73 a	6,57 a	3,49 a	0,09 a	1,34 a	7,61 a	4,44 a	0,05 a	0,76 b	13,03 a	33,82 a	0,57 a	3,82 ab	27,20 a	41,80 a

Obs: T1 = estaquia; T2 = miniestaquia; T3 = microestaquia; T4 = micropropagação.

Estas variações em idades iniciais na parcela experimental para o peso da matéria seca das folhas e galhos podem ser em parte explicadas pelo comportamento diferenciado das características avaliadas no que tange ao rejuvenescimento, pois de acordo com Greenwood (1992), Hackett e Murray, (1993) algumas características relacionadas com a maturação podem ser mais facilmente rejuvenescidas que outras, além de a facilidade de rejuvenescimento ser variável conforme a característica.

De maneira geral, as técnicas de propagação clonal, a princípio, com maior grau de juvenilidade como a micropropagação e microestaquia, proporcionaram em fase inicial uma maior alocação de matéria seca para o lenho, ficando também evidente para todos os clones avaliados, a uniformização após aos 16 meses de idade.

Este ganho inicial proveniente das técnicas de propagação, que utilizam propágulos mais juvenis fisiológica e ontogeneticamente, concorda com a literatura que aborda aspectos relacionados com a juvenilidade e maturação (Bonga, 1982; Hackett, 1987; Gomes, 1987; George, 1993; Greenwood e Hutchison, 1993; Hartmann et al., 1997), indicando que plantas em estado mais juvenil apresentam maior potencial de crescimento vegetativo.

4. CONCLUSÕES

De forma geral, observou-se que na fase inicial do teste clonal, as técnicas de micropropagação e microestaquia se mostraram superiores à miniestaquia e estaquia para alguns clones, no que tange ao crescimento em altura e *dap* e em relação à biomassa da parte aérea, nas avaliações aos 4 e 8 meses de idade. Entretanto, para alguns clones, a miniestaquia mostra resultados similares à micropropagação e microestaquia, com ligeira superioridade para a estaquia. Por outro lado, as avaliações realizadas aos 24 meses de idade indicaram tendência de uniformidade dos resultados entre as técnicas de propagação, com o avanço da idade do teste clonal.

Maior número de subcultivos *in vitro* pela micropropagação seriada, assim como a utilização de clones com maior dificuldade de propagação clonal e selecionados a partir de árvores em idades mais avançadas, podem resultar em efeitos mais pronunciados do rejuvenescimento.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSIS, T. F.; ROSA, O. P.; GONÇALVES, S. I. Propagação por microestaquia. In: CONGRESSO FLORESTAL ESTADUAL, 7., 1992, Nova Prata. **Anais...** Santa Maria, RS: UFSM, 1992. p. 824-836.

BONGA, J. M., Vegetative propagation in relation to juvenility, maturity and rejuvenation. In: BONGA, J. M., DURZAN, D. J. (Eds.). **Tissue culture in forestry**. Bostan: Martinus Hijhooff/Dr W. Junk Publishers, 1982. p.387-412.

CHAPERON, H. Vegetative propagation of *Eucalyptus*. In: SIMPÓSIO SOBRE SILVICULTURA Y MEJORAMIENTO GENÉTICO DE ESPÉCIES FORESTALES, 1987, Buenos Aires, Argentina. **Anales...** [S.l.]: AFOCEL, p. 215-232, 1987.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture** – The technology. 6.ed. v.1, England: Exegetics, 1993. 574 p.

GOMES, A. L. **Propagação clonal: princípios e particularidades**. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 1987. 69 p. (Série Didáctica, Ciências Aplicadas, 1).

GREENWOOD, M. S. Theoretical aspects of juvenility and maturation. In: DAVIES, T. D.; HAISSIG, B. E.; SANKHLA, N. (Eds.). **Mass production technology for genetically improved fast growing forest tree species**. Bordeaux: [s.n.], 1992. (Colloque AFOCEL IUFRO, Paris, 1992).

GREENWOOD, M. S.; HUTCHISON, K. W. Maturation as an developmental process. In: SYMPOSIUM IN IUFRO'S CENTENNIAL YEAR – MASS PRODUCTION TECHNOLOGY FOR GENETICALLY IMPROVED FAST GROWING FOREST TREE SPECIES, 1992, Bordeaux. **Syntheses...** Paris: AFOCEL, IUFRO, 1992. p.38-44.

GREENWOOD, M. S.; HUTCHISON, K. W. Maturation as an developmental process. In: AHUJA, M. R.; LIBBY, W. J.(Eds.). **Clonal forestry: genetics and biotechnology**. Budapest: Springer-Verlag, 1993. p. 14-33.

HACKETT, W.P. Donor plant maturation and adventitious root formation. In: DAVIES, T. D.; HAISSIG, B. E.; SANKHLA, N. (Eds.). **Adventitious root formation in cuttings**. Portland: Dioscorides Press, 1987. p.11-28 (Advances in plant Sciences series, 2).

HACKETT, W. P.; MURRAY, J. R. Maturation and rejuvenation in woody species. In: AHUJA, M. R. (Eds.). **Micropropagation of woody plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1993. p. 93 - 105.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 6.ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1997. 770 p.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. A.; GONÇALVES, A. N. **Propagação vegetativa de *Eucalyptus***: princípios básicos e a sua evolução no Brasil. ESALQ/USP: IPEF, 2000. 14 p. (Circular técnica, 192)

IKEMORI, Y. K. **Resultados preliminares sobre enraizamento de estacas de *Eucalyptus* spp.** Aracruz: Aracruz Celulose, 1975. 12p. (Informativo Técnico Aracruz, 1).

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Enciclopédia dos municípios brasileiros.** Rio de Janeiro, RJ: IBGE, 1969. v. 27, 459 p.

LIBBY, W. J.; AHUJA, M. R. The genetics of clones. In: AHUJA, M. R.; LIBBY, W. J. (Eds.) **Clonal forestry I. genetics and biotechnology**: Berlin: Springer-Verlag, 1993. p.5-13.

ROCKWOOD, D. L.; WARRAG, E. I. Field performance of micropropagated, macropropagated, and seed-derived propagules of three *Eucalyptus grandis* ortets. **Plant Cell Reports.**, v. 13, p.628-631, 1994.

SANTOS, A. P. **Avaliação silvicultural de clones de *Eucalyptus* spp. propagados por macro e micropropagação.** 2003. 51 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) –Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2003.

TITON, M. **Propagação clonal de *Eucalyptus grandis* por miniestaquia e microestaquia.** 2001. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

WATT, M. P.; DUNCAN, M. Ing.; BLAKEWAY, F. C.; HERMAN, B. Field performance of micropropagated *Eucalyptus* hybrids. **South African Forestry Journal**, n. 173, p. 17-21, 1995.

XAVIER, A.; ANDRADE, H. B.; OLIVEIRA, M. L.; WENDLING, I. Desempenho do enraizamento de microestacas e miniestacas de clones de híbrido de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v. 25, n. 4, p. 403-411, 2001.

XAVIER, A.; COMÉRIO, J. Microestaquia: uma maximização da micropropagação de *Eucalyptus*. **Revista Árvore**, v.20, n.1, p.9-16, 1996.

XAVIER, A.; COMÉRIO, J.; IANNELLI, C. M. Eficiência da estaquia, da microestaquia e da micropropagação na clonagem de *Eucalyptus* spp. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF *Eucalyptus*. **Proceedings ...** Colombo, PR: EMBRAPA, 1997. v. 2, p. 40-45.

**EFEITO DA ESTAQUIA, MINIESTAQUIA, MICROESTAQUIA E
MICROPROPAGAÇÃO NO DESEMPENHO SILVICULTURAL DE
CLONES HÍBRIDOS DE *Eucalyptus* spp.**

RESUMO - O presente trabalho objetivou avaliar a performance de quatro clones híbridos de *Eucalyptus* spp., propagados pelas técnicas de estaquia, micropropagação, microestaquia e miniestaquia, quanto às características de crescimento em altura e diâmetro (*dap*), bem como a produção de biomassa da parte aérea, em teste clonal, instalado em dois locais distintos localizados no norte de Minas Gerais. De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que os efeitos das técnicas de propagação não resultaram em diferenças expressivas no crescimento em altura e *dap*, nas avaliações aos 4, 8, 16 e 24 meses de idade, para os clones estudados. Em relação à biomassa da parte aérea, os resultados obtidos não indicaram uma tendência sobre possíveis efeitos das técnicas de propagação em relação ao comportamento silvicultural dos clones.

Palavras-chave: Silvicultura clonal, propagação vegetativa e clonagem.

**EFFECT OF THE CUTTING, MINICUTTING, MICRO CUTTING AND
MICROPROPAGATION IN THE SILVICULTURAL PERFORMANCE OF
Eucalyptus spp. HYBRID CLONES**

ABSTRACT - The objective of the present study was to evaluate the performance of four *Eucalyptus* spp. hybrid clones, propagated by the cutting, micropopagation, microcutting and minicutting techniques, concerning the height and diameter growth characteristics, as well as the aerial biomass production, in a cloning test, installed in two distinct places in the north of Minas Gerais State. According to the obtained results, it can be concluded that the propagation techniques effects did not result in expressive differences in the height growth and *dap*, in the 4, 8, 16 and 24 months old, for the studied clones. In relation to the aerial biomass, the obtained results do not indicate a tendency about possible effects of the propagation techniques in relation to the clones silvicultural performance.

Key words: Clonal forestry, vegetative propagation and cloning.

1. INTRODUÇÃO

A silvicultura clonal tem como ponto de partida a seleção de genótipos superiores para, posteriormente, proceder-se à propagação clonal massal. No entanto, para comprovar a superioridade genética dos indivíduos fenotipicamente selecionados, é necessário que eles sejam multiplicados e avaliados em testes clonais. Contudo, experiências com algumas espécies têm mostrado que propágulos vegetativos utilizados na propagação clonal não representam fielmente o crescimento e desenvolvimento das árvores selecionadas, podendo resultar em vários graus de redução dos potenciais benefícios da clonagem, como a redução de produtividade (Frampton e Foster, 1993).

Neste caso, um dos fatores em potencial, que interfere no crescimento das árvores e pode induzir a erros no processo de seleção, está relacionado com as mudanças morfológicas e fisiológicas, que as plantas arbóreas sofrem durante o seu ciclo de vida. Assim, propágulos originados de determinadas partes da planta, que propiciam um menor crescimento, podem levar à rejeição de clones com elevado valor genético.

Portanto, a escolha dos propágulos vegetativos ideais visa diminuir perdas relacionadas à não aptidão para a propagação vegetativa, formar mudas com alto vigor da parte aérea e radicular e visa também evitar o declínio do crescimento no campo, entre outras características. Segundo Hackett e Murray (1993), o conhecimento das mudanças, que ocorrem durante o ciclo de vida de algumas plantas arbóreas, tem importância prática significativa, pois a produtividade e a qualidade de uma espécie florestal estão correlacionadas com o seu grau de maturidade. Assim, a compreensão dos aspectos relacionados com as mudanças morfológicas e fisiológicas dos propágulos vegetativos utilizados na propagação e seu posterior desenvolvimento no campo virá incrementar em muito, o sucesso dos programas de silvicultura clonal.

Nesta linha de pesquisa, Xavier e Comério (1996) relataram que a heterogeneidade entre plantas em plantios comerciais de um mesmo clone é provocada pelo efeito “C” (efeito da clonagem) e pode ser minimizada com a utilização da micropropagação. Bell et al. (1993), Denison e Kietzka (1993) e Rockwood e Warrag (1994) relataram que o processo da micropropagação produz maior uniformidade e produtividade no plantio de um mesmo clone em relação à macropropagação. Essa maior uniformidade e produtividade das árvores pela micropropagação, segundo

Xavier et al. (1997), são provenientes da utilização de material vegetativo rejuvenescido *in vitro*, que promove a minimização do efeito “C”. Embora a influência do efeito “C” possa ser reduzida, pesquisas têm evidenciado que se deve tomar precaução na produção de propágulos destinados à propagação num programa de implantação de testes clonais (Flampton e Foster, 1993).

Atualmente, o uso das técnicas de microestaquia e miniestaquia pela maioria das empresas do setor florestal brasileiro, representa a aplicação de conhecimentos relacionados ao gradiente de maturação e do rejuvenescimento no processo de produção de mudas de *Eucalyptus*, em que ganhos em fase de viveiro com a utilização de propágulos mais juvenis estão bem evidenciados (Xavier e Comério, 1996; Assis, 1997; Xavier et al., 2001; Titon, 2001). Ganhos em crescimento no campo com o uso de propágulos vegetativos mais juvenis com o uso da micropropagação e possíveis ganhos com a microestaquia em comparação com a técnica de estaquia foram citados por Xavier et al. (1997). No entanto, a implantação de teste clonal no campo com uso de propágulos vegetativos com diferentes graus de juvenilidade, como a estaquia, micropropagação, microestaquia e miniestaquia, ainda é pouco conhecida. Um melhor entendimento dos efeitos do gradiente de juvenilidade e do rejuvenescimento em clones de *Eucalyptus* selecionados em idade adulta permitirá uma melhor interpretação dos testes clonais e uma redução de possíveis efeitos, que afetam a repetibilidade de um determinado clone, além da confirmação dos possíveis ganhos obtidos com o uso de propágulos mais juvenis.

Resultados de campo, também podem contribuir muito para a tomada de decisão sobre o uso de uma determinada técnica em detrimento de outra, visando a confirmação da melhor estratégica a ser adotada, pois em condições de viveiro, a técnica de microestaquia mostrou-se superior à técnica de miniestaquia (Titon, 2001; Xavier et al., 2001); principalmente no que tange a clones de baixo enraizamento. Por outro lado, existem clones com grande facilidade de propagação vegetativa, em que procedimentos mais simples e de menor custo, como a estaquia e miniestaquia podem ser uma alternativa viável (Xavier et al., 2001).

Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar o desempenho de quatro clones de *Eucalyptus* spp., propagados pelas técnicas de estaquia, micropropagação, microestaquia e miniestaquia, quanto às características de crescimento em altura e diâmetro (*dap*), bem como a produção de biomassa da parte aérea em condições de campo, para dois diferentes sítios localizados na região norte de Minas Gerais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

No presente estudo, os efeitos da propagação clonal por estaquia, micropropagação, microestaquia e miniestaquia, quanto ao desempenho no campo de 4 clones de *Eucalyptus*, foram avaliados em dois testes clonais e em duas parcelas experimentais instalados em dois locais distintos: o primeiro foi localizado em Bocaiúva, MG, na Fazenda Corredor (Local 1), com precipitação média anual de 931 mm e solo de textura predominantemente argilosa e o segundo, localizado no Município de João Pinheiro, MG, na Fazenda Campo Alegre (Local 2), apresentando precipitação média anual de 1189 mm e solo de textura predominantemente arenosa.

Os materiais genéticos utilizados foram quatro clones de *Eucalyptus* spp.: sendo um clone de *Eucalyptus tereticornis* x *Eucalyptus pellita* (VM1), dois clones híbridos naturais de *Eucalyptus grandis* (VM2 e VM3) e um clone de *Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus grandis* (VM4). As mudas utilizadas para a instalação dos testes clonais e das parcelas experimentais foram produzidas a partir de jardins clonais instalados no Viveiro Florestal da V & M Florestal. As mudas foram obtidas por meio da propagação vegetativa, pelas técnicas de estaquia, micropropagação, microestaquia e miniestaquia, de acordo com os procedimentos descritos nos itens subseqüentes.

2.1. Obtenção das mudas clonais

As mudas obtidas pela técnica de estaquia foram produzidas a partir de propágulos vegetativos (estacas), variando de 8 a 10 cm de comprimento, oriundas de jardim clonal instalado em área de campo. Essas estacas foram enraizadas em casa de vegetação (permanência de 30 dias), com a aplicação na base das estacas do regulador de crescimento, ácido indolbutírico (AIB) na concentração de 4.000 mg L⁻¹. Posteriormente, as estacas enraizadas foram aclimatadas em casa de sombra, com sombrite 50% (permanência de 10 dias) e rustificadas a pleno sol, até aos 90 dias de idade.

A produção das mudas referente à técnica de microestaquia foi obtida pelo enraizamento de microestacas, com dimensões variando de 4 a 6 cm de comprimento, coletadas no jardim microclonal, localizado em pleno sol. O enraizamento ocorreu em casa de vegetação com a permanência de 25 dias. Posteriormente, as

microestacas foram transferidas para casa de sombra, com sombrite 50%, onde permaneceram 8 dias para aclimação. Finalmente foram para pleno sol até completarem 75 dias de idade. Na técnica de miniestaquia, as mudas foram produzidas pelo enraizamento de miniestacas, coletadas no jardim miniclonal formado a partir de mudas advindas da técnica de estaquia, tendo as demais etapas seguido os mesmos procedimentos da técnica de microestaquia.

As mudas micropropagadas foram obtidas após a micropropagação a partir da proliferação de gemas axilares. Os clones passaram por 10 a 12 subcultivos em meio de cultura adequado com a finalidade de obter o rejuvenescimento. Após o alongamento das gemas *in vitro*, estas foram transplantadas em casa de vegetação, para o enraizamento *ex vitro*, em tubetes plásticos de 55 cm³ de capacidade, contendo substrato constituído de partes iguais de vermiculita de granulometria média e casca de arroz carbonizada. Essa fase foi realizada no Laboratório de Cultura de Tecidos II do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO) e no Viveiro de Pesquisas Florestais do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG.

A nutrição mineral utilizada na formação das mudas micropropagadas foi composta por superfosfato simples (8 kg m⁻³) em mistura ao substrato e pela nutrição complementar composta pela solução de sulfato de amônio (20 g L⁻¹), cloreto de potássio (3,33 g L⁻¹), sulfato de zinco (0,22 g L⁻¹), sulfato de cobre (0,22 g L⁻¹), sulfato de manganês (0,22 g L⁻¹) e ácido bórico (0,39 g L⁻¹), sendo aplicados 2,5 mL dessa solução para cada tubete, 2 vezes por semana. Essas mudas foram transferidas para o viveiro da empresa, onde receberam a mesma adubação das mudas propagadas pelas outras técnicas (estaquia, miniestaquia e microestaquia), por um período de três semanas antes do plantio.

Para a formação das mudas por estaquia, microestaquia e miniestaquia foram utilizados, como recipientes, tubetes plásticos de 55 cm³ de capacidade, contendo mistura de casca de arroz carbonizada (50%) e vermiculita de granulometria média (50%). A nutrição mineral utilizada na formação das mudas foi composta por superfosfato simples (8 kg m⁻³) em mistura no substrato e pela nutrição complementar composta pela solução de sulfato de amônio (18 g L⁻¹), cloreto de potássio (3,33 g L⁻¹), sulfato de zinco (0,22 g L⁻¹), sulfato de cobre (0,22 g L⁻¹) e ácido bórico (0,39 g L⁻¹), sendo aplicados 2,5 mL dessa solução por tubete (2 vezes por semana).

2.2. Tratamentos e delineamento experimental

Após a obtenção das mudas pelas técnicas de estaquia, micropropagação, microestaquia e miniestaquia, estas foram transferidas para o campo, onde foram instalados dois testes clonais e duas parcelas experimentais em regiões distintas (locais 1 e 2).

O teste clonal foi instalado seguindo o delineamento de blocos ao acaso, no esquema de parcela subdividida (clone e técnica de propagação), com 8 repetições e parcelas lineares de 4 plantas, obedecendo ao espaçamento de 3 x 3 metros. A parcela experimental foi instalada com parcelas base de 6 plantas x 5 linhas, num total de 30 plantas por técnica de propagação, por clone, segundo o esquema de amostragem seletiva.

O experimento foi instalado em dezembro de 2000, em uma área de reforma, anteriormente ocupada por um povoamento de eucalipto. Para ambos os locais e experimentos, o solo foi preparado por meio de subsolagem, a uma profundidade de 50 cm em linha. No momento do plantio, o sistema radicular das mudas foi imerso em uma solução de 1,0% de fosfato monoamônio (MAP), recebendo posteriormente (entre 10 a 25 dias após o plantio) uma adubação suplementar de 100 g/planta de NPK (06-30-06) + 7% S aplicada em coveta lateral.

2.3. Avaliações

As avaliações no teste clonal e na parcela experimental foram realizadas aos 4, 8, 16 e 24 meses de idade, a contar da data de implantação do experimento, de acordo com o teste. No teste clonal, foram mensuradas as características de crescimento em altura e diâmetro a 1,30 metro do solo (*dap*), de todos os indivíduos dentro de cada parcela, sendo as avaliações do *dap* realizadas a partir terceira avaliação (16 e 24 meses de idade). Quanto à parcela experimental, foram realizadas avaliações das técnicas de propagação, em relação ao crescimento da parte aérea das árvores, obtendo a biomassa foliar, dos galhos e tronco, a partir de três árvores médias representativas da parcela.

Para a obtenção da biomassa das folhas e dos galhos, as árvores abatidas foram desganhadas rentes ao tronco e desfolhadas. Em seguida, foi obtida a biomassa úmida e desta retirada uma amostra de 300 gramas, a qual foi seca em estufa a

temperatura de 70°C até obter peso de matéria seca constante, obtendo-se o peso da matéria seca foliar e dos galhos.

Após ser desganhado, o tronco foi dividido em três segmentos iguais em comprimento e, obtida a biomassa úmida, retirou-se uma amostra de mesmo comprimento (2 cm) em cada seção, constituindo três amostra por tronco por árvore. Após se obter o peso da matéria seca das amostras, obteve-se o peso da matéria seca do lenho, conforme procedimentos adotados para biomassa foliar e dos galhos.

Nas avaliações das características, aos 4 e 8 meses de idade, foram utilizados os dados obtidos por SANTOS (2003). Vale salientar que as avaliações de altura aos 8 meses não foram obtidas para o local 1, assim como os dados referentes à estaquia do clone VM1 no teste clonal e na parcela experimental. A técnica de microestaquia do clone VM1 e as técnicas de microestaquia e miniestaquia do clone VM2, na parcela experimental, também não foram incluídas no local 2 por motivos operacionais.

Os dados resultantes foram analisados por meio de análise de variância, testes de médias (Teste de Tukey) a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa SAEG, Sistema para Análises Estatísticas, da Universidade Federal de Viçosa, MG.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Crescimento em altura

No que tange ao crescimento em altura das plantas, avaliado aos 4, 8, 16 e 24 meses de idade, observou-se de modo geral, resposta similar entre as técnicas de propagação para a maioria dos clones nas diversas idades de avaliação, indicando uma pequena diferença de juvenilidade entre os propágulos vegetativos (Figura 1).

As diferenças fisiológicas e ontogenéticas observadas entre os propágulos foram insuficientes para expressar diferenças em crescimento no campo. Espera-se que propágulos mais juvenis, como os usados na micropropagação e microestaquia, apresentem um melhor desenvolvimento no campo, pois resultados superiores com o uso da micropropagação em comparação com a macropropagação foram obtidos por Bell et al., (1993), Denison e Kietzka (1993), Rockwood e Warrag (1994), Watt et al., (1995) e Xavier et al., (1997).

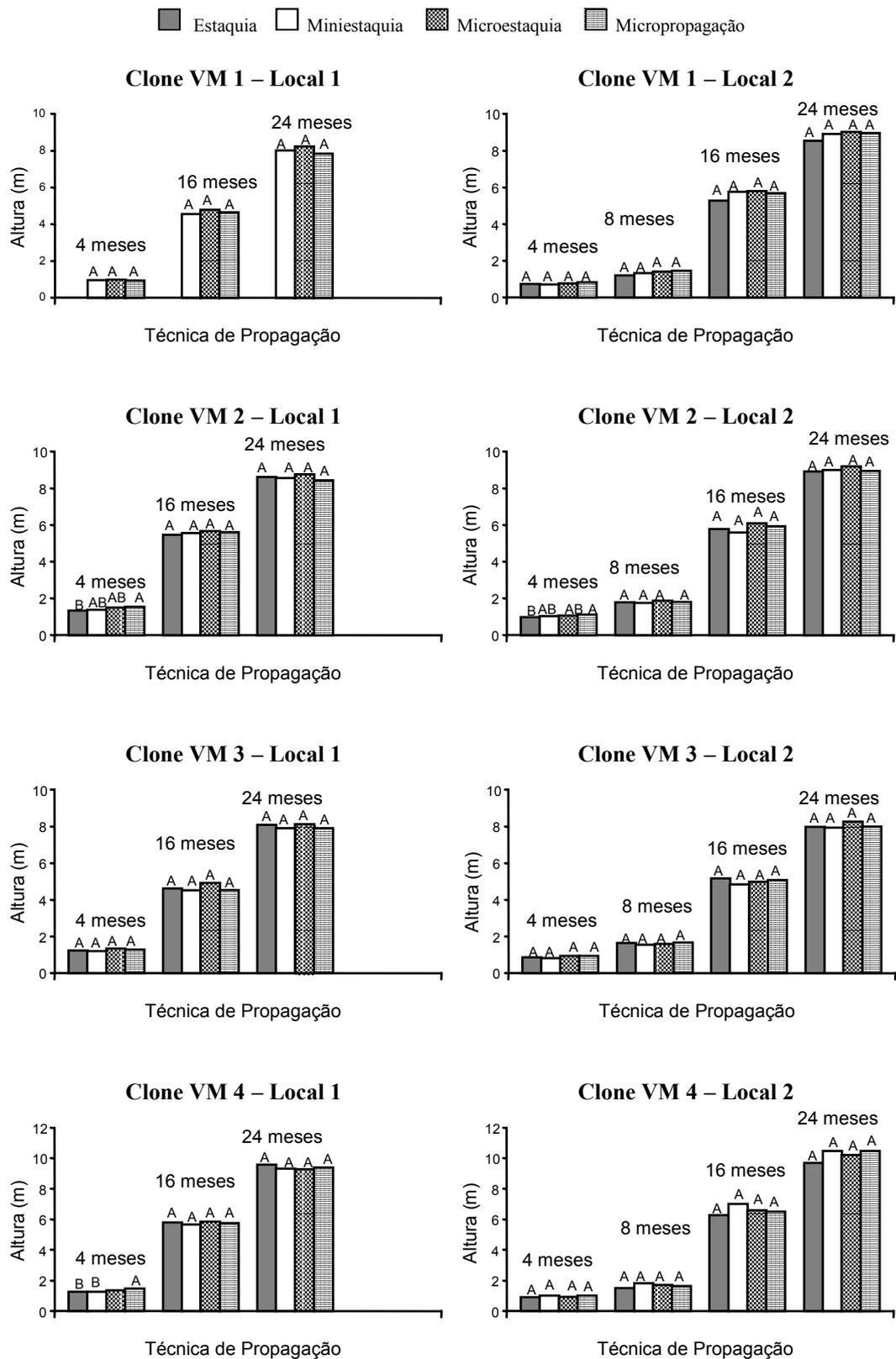


Figura 1 – Médias de crescimento em altura aos 4, 8, 16 e 24 meses de idade, em função da técnica de propagação dos quatro clones de *Eucalyptus* spp. Médias seguidas de uma mesma letra dentro de cada clone, local e idade entre as técnicas de propagação não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Exceção ocorre para os clones VM2 e VM4, em fase inicial do teste clonal, aos 4 meses, que apresentaram diferenças significativas entre as técnicas de propagação. Em relação ao clone VM2, a micropropagação apresentou superioridade significativa em relação à estaquia para os dois locais, possivelmente devido à utilização de material vegetativo, rejuvenescido *in vitro*, que tendem a promover a minimização do efeito “C”. A redução do efeito “C”, neste caso, além do rejuvenescimento *in vitro*, pode ser atribuída ao estado fisiológico dos propágulos vegetativos, pois as mudas propagadas pelas técnicas de miniestaquia, microestaquia e micropropagação são provenientes de propágulos vegetativos herbáceos e apicais e as mudas propagadas pela estaquia são confeccionadas a partir de estacas semi-lenhosas e intermediárias.

Em relação ao clone VM4, observou-se aos 4 meses de idade, resultados distintos em relação ao local de plantio das mudas. No Local 1, observou-se uma melhor performance com o uso da micropropagação e microestaquia em relação à miniestaquia e estaquia. No entanto, para o local 2, observou-se a não ocorrência de diferenças significativas entre as técnicas de propagação.

Em trabalho realizado por Xavier et al. (2001), utilizando o material genético VM2 e VM4, observou-se que o primeiro demonstrou maior aptidão à propagação; no entanto, em ambos os clones, a microestaquia proporcionou condições de viabilidade na propagação clonal, em função dos altos percentuais de enraizamento. Os mesmo autores ressaltaram ainda que o clone de menor aptidão para a propagação clonal (VM4) apresentou melhor resposta para a microestaquia, resultando na suposição de que materiais genéticos menos propensos à propagação clonal dariam melhores respostas ao rejuvenescimento *in vitro*.

Assim, de forma geral, com base nos resultados obtidos neste estudo, pode-se inferir que as plantas provenientes das técnicas de propagação que utilizam propágulos mais juvenis fisiologicamente e ontogeneticamente, a partir de clones com menor propensão à propagação vegetativa, proporcionaram tendências de respostas mais efetivas também na fase inicial de crescimento no campo. Entretanto, essas diferenças não foram percebidas em idades mais avançadas. Vale ressaltar que para clones com facilidade na propagação clonal, as técnicas de estaquia, micropropagação, microestaquia e miniestaquia apresentaram desempenho silvicultural semelhante.

3.2. Crescimento em diâmetro (*dap*)

Baseando-se nos preceitos teóricos sobre juvenilidade e maturação, em que é definido que plantas mais juvenis tendem a apresentar maior vigor vegetativo e maior tendência ao crescimento vegetativo (GREENWOOD e HUTCHISON, 1993; HARTMANN et al., 1997), seria esperado que técnicas que utilizam propágulos a princípio mais juvenis como a micropropagação e microestaquia apresentassem maior crescimento em diâmetro. Porém, com base na Figura 2, não se observou diferença significativa entre as técnicas, indicando que as respostas fisiológicas e ontogenéticas entre os propágulos foram similares na expressão do comportamento de crescimento em diâmetro (*dap*), avaliado aos 16 e 24 meses, nos dois locais.

Cabe ressaltar que os efeitos da maturação se expressam ao longo do ciclo de vida das plantas. Desta forma, considerando que os clones neste estudo foram provenientes de árvores selecionadas aos 7 anos de idade, os efeitos da maturação sobre as características avaliadas ainda não são acentuados o suficiente para evidenciar diferenças no desempenho silvicultural dos mesmos. Por outro lado, segundo Hackett e Murray (1993), as características relacionadas à maturação são reversíveis, porém não apresentam o mesmo grau de facilidade na reversão, que é, para determinada característica, variável em decorrência do grau de juvenilidade do material.

De modo geral, pode-se concluir que os efeitos das técnicas de propagação não resultaram em diferenças expressivas em altura e *dap*, nas idades avaliadas, para os clones estudados e nas condições ambientais locais.

3.3. Biomassa da parte aérea

De acordo com os dados apresentados nos Quadros 1 e 2, verificaram-se para o peso da matéria seca foliar e dos galhos, respostas variadas em relação às técnicas de propagação, avaliadas aos 4, 8, 16 e 24 meses de idade nos dois locais. Não se observou a ocorrência de uma resposta consistente nas características estudadas como resultado dos tratamentos aplicados. Os coeficientes de variação experimental obtidos para estas características variaram de 16% a 31% para o local 1 e de 30% a 38% para o local 2.

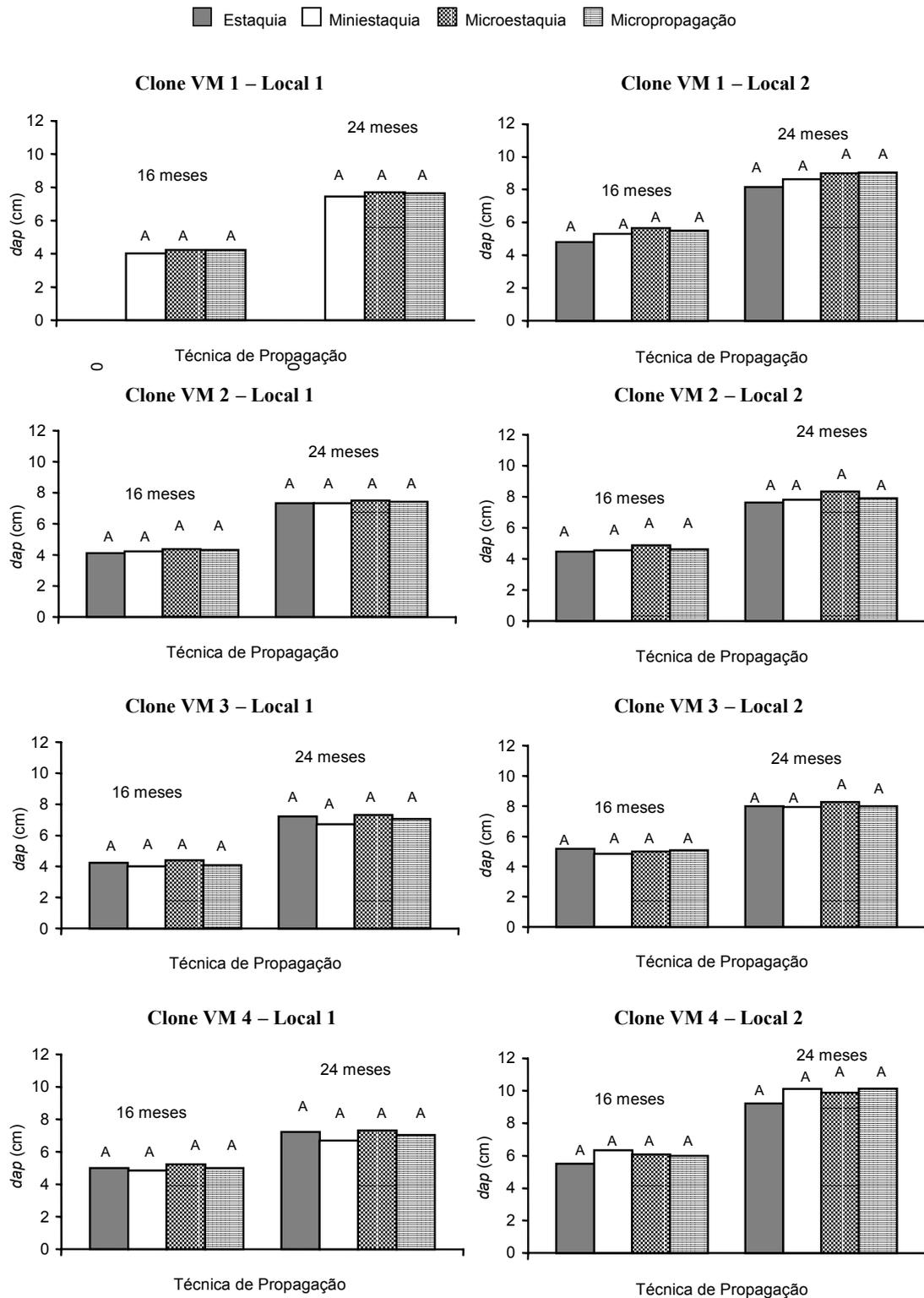


Figura 2 – Médias do crescimento em diâmetro a 1,30 metro de altura do solo (*dap*), aos 16 e 24 meses, em função da técnica de propagação dos quatro clones de *Eucalyptus* spp. Médias seguidas de uma mesma letra dentro de cada clone, idade e local entre as técnicas de propagação não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quadro 1 – Médias do peso de matéria seca (kg) da parte aérea aos 4, 8, 16 e 24 meses de idade, para o local 1, em função da técnica de propagação e dos quatro clones de *Eucalyptus* spp. Médias seguidas de uma mesma letra dentro de cada clone, característica e idade entre as técnicas de propagação para cada idade não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Clone	Técnica de propagação	Peso de Matéria Seca da Parte Aérea (kg)															
		Folha				Galho				Lenho				Total			
		Idade (meses)				Idade (meses)				Idade (meses)				Idade (meses)			
		4	8	16	24	4	8	16	24	4	8	16	24	4	8	16	24
VM1	T1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	T2	0,06 a	0,14 ab	1,08 a	3,58 a	0,02 a	0,05 b	0,97 a	1,78 a	0,02 a	0,06 a	1,21 a	4,70 a	0,06 a	0,41 a	3,27 a	10,10 a
	T3	0,11 a	0,21 a	1,73 a	4,52 a	0,04 a	0,10 a	1,25 a	2,48 a	0,03 a	0,10 a	1,72 a	6,56 a	0,11 a	0,26 a	4,71 a	13,60 a
	T4	0,08 a	0,12 b	1,35 a	3,89 a	0,02 a	0,06 b	0,69 a	2,26 a	0,02 a	0,07 a	1,33 a	5,46 a	0,07 a	0,25 a	3,38 a	11,6 a
VM2	T1	0,074 b	0,12 b	1,43 a	3,32 b	0,03 b	0,07 a	1,26 b	2,26 c	0,03 b	0,07 a	1,46 b	6,42 a	0,07 b	0,26 a	4,16 b	12,20 b
	T2	0,07 b	0,14 ab	2,09 a	3,96 a	0,03 b	0,08 a	1,83 a	3,65 ab	0,02 b	0,08 a	1,98 ab	6,52 a	0,08 b	0,31 a	5,91 ab	14,10 ab
	T3	0,17 a	0,17 a	1,94 a	4,69 a	0,06 a	0,09 a	1,80 ab	5,01 a	0,05 a	0,10 a	2,70 a	8,17 a	0,17 a	0,36 a	6,45 a	17,90 a
	T4	0,11 ab	0,12 b	1,65 a	3,69 ab	0,05 ab	0,06 a	1,52 ab	3,84 ab	0,05 a	0,08 a	2,17 ab	7,14 a	0,12 a	0,27 a	5,34 ab	14,70 ab
VM3	T1	0,06 ab	0,09 a	0,64 a	1,57 b	0,02 a	0,05 a	0,39 a	0,65 b	0,03 b	0,09 ab	0,79 b	4,28 b	0,06 ab	0,24 a	1,82 a	6,50 c
	T2	0,03 b	0,04 b	0,82 a	2,29 ab	0,01 a	0,03 b	0,45 a	1,70 ab	0,02 b	0,06 b	1,11 ab	5,99 b	0,03 b	0,13 b	2,33 a	9,90 bc
	T3	0,08 a	0,09 a	1,50 a	2,76 a	0,03 a	0,05 a	0,56 a	1,65 ab	0,05 a	0,12 a	1,60 ab	9,03 a	0,08 a	0,26 a	3,65 a	13,40 ab
	T4	0,07 ab	0,10 a	1,25 a	2,74 a	0,02 a	0,06 a	0,74 a	2,07 a	0,04 ab	0,10 ab	1,89 a	9,82 a	0,07 ab	0,26 a	3,89 a	14,60 a
VM4	T1	0,08 a	0,15 a	1,12 a	3,91 a	0,03 a	0,09 a	0,75 a	2,79 a	0,03 bc	0,13 ab	1,32 ab	9,73 a	0,08 a	0,36 a	3,19 a	16,40 a
	T2	0,06 a	0,01 a	1,13 a	3,75 a	0,02 a	0,08 a	0,73 a	2,64 a	0,03 c	0,10 b	1,16 b	8,86 a	0,06 a	0,30 a	3,01 a	15,2 a
	T3	0,08 a	0,16 a	1,76 a	3,95 a	0,04 a	0,09 a	0,91 a	2,87 a	0,05 ab	0,15 a	2,22 a	10,57 a	0,09 a	0,40 a	4,89 a	17,30 a
	T4	0,09 a	0,14 a	1,35 a	3,87 a	0,04 a	0,07 a	0,89 a	2,93 a	0,05 a	0,12 ab	2,12 a	10,3 a	0,09 a	0,32 a	4,37 a	17,10 a

Obs:T1 = estaquia; T2 = miniestaquia; T3 = microestaquia; T4 = micropropagação.

Quadro 2 – Médias do peso de matéria seca (kg) da parte aérea aos 4, 8, 16 e 24 meses de idade, para o local 2, em função da técnica de propagação e dos quatro clones de *Eucalyptus* spp. Médias seguidas de uma mesma letra dentro de cada clone, característica e idade entre as técnicas de propagação para cada idade não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Clone	Técnica de propagação	Peso de Matéria Seca da Parte Aérea (Kg)															
		Folha				Galho				Lenho				Total			
		Idade (meses)				Idade (meses)				Idade (meses)				Idade (meses)			
		4	8	16	24	4	8	16	24	4	8	16	24	4	8	16	24
VM1	T1	0,03 a	0,17 a	2,10 b	5,55 a	0,01 b	0,05 b	1,04 b	4,39 ab	0,07 a	0,06 b	1,28 b	7,44 b	0,05 b	0,29 a	4,42 b	17,40 b
	T2	0,06 a	0,18 a	2,51 a	7,07 a	0,02a	0,06 b	1,30 ab	3,83 b	0,014 a	0,05 b	1,57 b	9,51 b	0,09 a	0,30 a	5,38 b	20,40 b
	T3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	T4	0,05 a	0,32 a	3,33 a	8,16 a	0,01 ab	0,13 a	1,88 a	6,67 a	0,01 a	0,12 a	3,30 a	16,80 a	0,07 a	0,14 b	8,50 a	31,60 a
VM2	T1	0,02 b	0,11 a	1,80 a	4,21 a	0,00 a	0,04 b	1,36 a	4,23 a	0,01 b	0,05 a	1,58 a	7,66 a	0,03 b	0,19 b	4,75 a	16,10a
	T2	0,04 a	0,15 a	1,96 a	5,38 a	0,01 a	0,07 a	1,84 a	5,49 a	0,02 a	0,07 a	1,88 a	8,68 a	0,08 a	0,28 a	5,67 a	19,60 a
	T3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	T4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VM3	T1	0,06a	0,23 a	1,51 a	2,49 a	0,02 a	0,07 a	0,66 a	1,62 a	0,03 a	0,18 a	2,07 b	8,48 a	0,10 a	0,48 a	4,24 b	12,58 a
	T2	0,06 a	0,18 ab	1,71 a	2,74 a	0,02a	0,07 a	0,80 a	1,59 a	0,03 a	0,15 a	3,54 ab	9,66 a	0,11 a	0,40 a	6,05 ab	13,98 a
	T3	0,04 a	0,14 b	2,42 a	3,79 a	0,01 a	0,05 a	1,26 a	2,01 a	0,02 a	0,12 a	4,78 a	12,36 a	0,07 a	0,32 a	8,45 a	18,16 a
	T4	0,05 a	0,15 b	2,23 a	2,92 a	0,02a	0,06 a	1,12 a	1,75 a	0,03 a	0,15 a	4,66 a	9,56 a	0,10 a	0,36 a	8,02 a	14,24 a
VM4	T1	0,08 a	0,28 a	2,58 a	4,50 a	0,03 a	0,16 a	1,63 a	4,34 a	0,03 a	0,18 a	3,98 a	11,48 ab	0,13 a	0,62 a	8,20 a	24,30 a
	T2	0,05 a	0,21 a	1,98 a	4,06 a	0,01 a	0,09 ab	1,55 a	2,63 a	0,02 a	0,13 a	2,11 b	15,46 b	0,09 a	0,43 a	5,65 a	18,30 a
	T3	0,06 a	0,18 a	2,30 a	4,82 a	0,02 a	0,07 b	1,55 a	3,93 a	0,03 a	0,10 a	3,71 a	15,99 ab	0,11 a	0,35 a	7,56 a	24,70 a
	T4	0,04 a	0,20 a	2,06 a	5,79 a	0,01 a	0,10 ab	1,50 a	4,10 a	0,02 a	0,13 a	3,63 ab	18,01 a	0,08 a	0,43 a	7,19 a	27,90 a

Obs: T1 = estaquia; T2 = miniestaquia; T3 = microestaquia; T4 = micropropagação.

Quanto ao peso da matéria seca foliar, para o clone VM4, por exemplo, observou-se a não ocorrência de diferenças significativas entre as técnicas de propagação, nas quatro idades e para os dois locais. Isto indica que a diferença de juvenilidade entre os propágulos vegetativos foi insuficiente para expressar resposta diferenciada. No entanto, verificaram-se menores pesos com o uso da micropropagação em comparação com a microestaquia para o clone VM1 e VM2, aos 8 meses de idade e resultados superiores com a estaquia em comparação com a miniestaquia, para o clone VM3, aos 8 meses. Assim, observou-se resposta, a princípio, não consistente, apesar de serem escassos os registros em literatura com o intuito de avaliar a influência de técnicas de propagação clonal sobre o peso da matéria seca foliar. No local 2 (Quadro 2), como no local 1 (Quadro 1), observou-se diversidade de resposta em relação às técnicas de propagação, épocas de avaliação e ao material genético utilizado. De modo geral, pode-se dizer que as respostas apresentaram-se inconsistentes.

Quando se avalia a biomassa dos galhos, nota-se que os resultados indicam certa tendência de as técnicas de micropropagação e microestaquia apresentarem respostas superiores às demais técnicas de propagação. Para o clone VM2, aos 24 meses, no local 1, a microestaquia mostrou-se superior à estaquia. Entretanto, independente do local e em algumas idades de avaliação, existem respostas inconsistentes, como a resposta superior com o uso da estaquia em comparação com a miniestaquia para o clone VM3, aos 8 meses de idade.

Segundo WENDLING (2002), a possibilidade de ocorrerem influências negativas dos métodos de rejuvenescimento em clones com maior grau de juvenilidade, está associada ao fato de existir uma linha de máxima juvenilidade. A partir desta linha, qualquer método ou técnica de rejuvenescimento não mais resultaria em respostas positivas, ocasionando, em algumas situações, redução no vigor geral dos propágulos, em razão dos tratamentos e manejo envolvidos.

Para alguns clones e em determinadas idades, as técnicas, a princípio, com maior grau de juvenilidade proporcionaram uma maior alocação de biomassa para o lenho. Para o local 1, aos 16 meses, a microestaquia para o clone VM2 apresentou melhores resultados do que a técnica de estaquia. Melhores resultados foram observados com a microestaquia, para os clones VM3 e VM4, aos 4 e 8 meses, em comparação com a miniestaquia. Resultados superiores foram obtidos com a micropropagação e microestaquia para o clone VM3, aos 24 meses, em comparação com a

miniestaquia e estaquia e superiores à miniestaquia para o clone VM4, aos 16 meses. No entanto, assim como para a biomassa das folhas e galhos, verificou-se resposta inconsistente.

Desta forma, o peso da matéria seca da parte aérea das plantas nas diferentes idades e clones, de modo geral, não indicou uma tendência sobre possíveis efeitos das técnicas de propagação em relação ao comportamento silvicultural dos clones.

4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos e nas condições em que foram instalados os experimentos, de forma geral, pode-se concluir que os efeitos das técnicas de propagação não resultaram em diferenças significativas no crescimento em altura e *dap*, nas idades avaliadas, para os clones estudados. Em relação à biomassa da parte aérea, os resultados não indicaram uma tendência sobre possíveis efeitos das técnicas de propagação em relação ao comportamento silvicultural dos clones.

Maior número de subcultivos *in vitro* pela micropropagação seriada, assim como a utilização de clones com maior dificuldade de propagação clonal e selecionados a partir de árvores em idades mais avançadas, podem resultar em efeitos mais pronunciados no rejuvenescimento.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSIS, T. F. Propagação vegetativa de *Eucalyptus* por microestaquia. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPTS, 1997, Salvador. **Proceedings...** Colombo: EMBRAPA, 1997. v. 1, p. 300-304.

BELL, D. T.; MOEZEL, P. G.; BENNETT, I. J.; MCCOMB, J. A.; WILKINS, C. F.; MARSHALL, S. C. B.; MORGAN, A. L. Comparisons of growth of *Eucalyptus camaldulensis* from seeds and tissue culture: root, shoot and leaf morphology of 9-month – old plants growth in deep sand and sand over day. **Forest Ecology and Management**, v.57, p. 125-139, 1993.

DENISON, N. P.; KIETZKA, J. E. The development and utilization of vegetative propagation in mondi for commercial afforestation programmes. Suid – Afrikaanse Bobouthkrif. **South African Forestry Journal**, n.166, p.53-60, 1993.

FRAMPTON, L.J., FOSTER, G.S. Field testing vegetative Propagules. In: AHUJA, M. R.; LIBBY, W. J. (Eds.). **Clonal forestry: genetics and biotechnology**. Budapest: Springer-Verlag, 1993. p. 110-134.

- GREENWOOD, M. S.; HUTCHISON, K. W. Maturation as an developmental process. In: AHUJA, M. R.; LIBBY, W. J. (Eds.). **Clonal forestry: genetics and biotechnology**. Budapest: Springer-Verlag, 1993. p. 14-33.
- HACKETT, W. P.; MURRAY, J. R. Maturation and rejuvenation in woody species. In: AHUJA, M. R. (Ed.) **Micropropagation of woody plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1993. p. 93-105.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 6.ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1997. 770 p.
- ROCKWOOD, D. L.; WARRAG, E. I. Field performance of micropropagated, macropropagated, and seed-derived propagules of three *Eucalyptus grandis* ortets. **Plant Cell Reports.**, v.13, p.628-631, 1994
- SANTOS, A. P. **Avaliação silvicultural de clones de *Eucalyptus* spp. propagados por macro e micropropagação**. 2003. 51 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2003.
- TITON, M. **Propagação clonal de *Eucalyptus grandis* por miniestaquia e microestaquia**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.
- WATT, M. P.; DUNCAN, M. Ing.; BLAKEWAY, F. C.; HERMAN, B. Field performance of micropropagated *Eucalyptus* hybrids. **South African Forestry Journal**, n. 173, p. 17-21, 1995.
- WENDLING, I. **Rejuvenescimento de clones de *Eucalyptus grandis* por miniestaquia seriada e micropropagação**. 2002. 99 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2002.
- XAVIER, A.; ANDRADE, H. B.; OLIVEIRA, M. L.; WENDLING, I. Desempenho do enraizamento de microestacas e miniestacas de clones de híbrido de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v. 25, n. 4, p. 403-411, 2001.
- XAVIER, A.; COMÉRIO, J. Microestaquia: uma maximização da micropropagação de *Eucalyptus*. **Revista Árvore**, v.20, n.1, p.9-16, 1996.
- XAVIER, A.; COMÉRIO, J.; IANNELLI, C. M. Eficiência da estaquia, da microestaquia e da micropropagação na clonagem de *Eucalyptus* spp. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF *Eucalyptus*. **Proceedings...** Colombo, PR: EMBRAPA, 1997. v. 2, p. 40-45.

3. CONCLUSÕES GERAIS

Com base nos objetivos definidos neste trabalho, buscando avaliar o desempenho em teste clonal de clones de *Eucalyptus* spp., propagados pelas técnicas de estaquia, micropropagação, microestaquia e miniestaquia, quanto às características de crescimento em altura e *dap*, e à produção de biomassa da parte aérea, conclui-se que o ambiente, o material genético (clone) e a idade de avaliação interferiram na resposta quanto ao comportamento silvicultural em relação às técnicas de propagação vegetativa.

De forma geral, verificou-se em fase inicial do teste clonal um melhor desempenho das técnicas de micropropagação e microestaquia em relação à miniestaquia e estaquia para alguns clones, no que tange ao crescimento em altura, *dap* e à biomassa da parte aérea. Para alguns clones, a miniestaquia mostrou resultados similares à micropropagação e microestaquia, com ligeira superioridade para a estaquia. Por outro lado, evidenciou-se uma uniformidade dos resultados entre as técnicas de propagação clonal, para as características avaliadas com o avanço da idade do teste clonal. Entretanto, avaliações em idades posteriores às avaliações deste trabalho são necessárias, visando a confirmação das tendências observadas até a presente data.

Maior número de subcultivos *in vitro* pela micropropagação seriada, assim como a utilização de clones com maior dificuldade de propagação clonal e selecionados a partir de árvores em idades mais avançadas, podem resultar em efeitos mais pronunciados no rejuvenescimento.