

MIRANDA TITON

PROPAGAÇÃO CLONAL DE *Eucalyptus grandis* POR
MINIESTAQUIA E MICROESTAQUIA

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
2001

MIRANDA TITON

PROPAGACÃO CLONAL DE *Eucalyptus grandis* POR
MINIESTAQUIA E MICROESTAQUIA

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: 22 de março de 2001.

Prof. Geraldo Gonçalves dos Reis
(Conselheiro)

Prof. Wagner Campos Otoni
(Conselheiro)

Prof.^a Rita de Cássia Gonçalves Borges

Prof. Ismael Eleotério Pires

Prof. Aloisio Xavier
(Orientador)

*À minha família, especialmente aos meus pais
Artemio Titon e Julieta Regina Titon.*

*Aos meus sobrinhos Ana Carolina,
Bruno e Fernando.*

AGRADECIMENTO

A Deus, fonte de toda a sabedoria, por tudo.

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.

À CAPES (Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela bolsa de estudo.

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

À Empresa Celulose Nipo-Brasileira S/A (CENIBRA), pelo fornecimento de material genético (clones) e pelo apoio físico e financeiro.

Aos membros da banca examinadora, pelas críticas e sugestões.

Aos meus amigos do Laboratório de Cultura de Tecidos II do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO), especialmente ao Professor Wagner Campos Otoni e à Elisonete R. G. Lani, por todo o aprendizado e pela oportunidade de convívio.

Ao Professor Hélio Garcia Leite, pelo auxílio referente às análises estatísticas.

Aos amigos e professores da Universidade Federal de Mato Grosso, pelo estímulo à realização deste Programa de Mestrado.

Às minhas amigas da república Miki, Poliane, Renata e Anamaria, pelo convívio agradável e por todo o carinho e apoio.

Aos meus amigos Rogério, Müller, Fabiana, Suzana, Solange e, especialmente, a Adriana, Ismael e Ivar, pela ajuda, pelo companheirismo e pelos conselhos.

Aos integrantes do grupo de Pesquisa e Desenvolvimento em Silvicultura Clonal Ivar, Rogério, Elisa, Maíra, Alex, Fabiana, Glêison, Marcelo e Rodrigo, pela ajuda e troca de experiência.

Às funcionárias do viveiro da CENIBRA Rosimar e Marlúcia, pelo auxílio na instalação dos experimentos e na coleta de dados.

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

BIOGRAFIA

MIRANDA TITON, filha de Artemio Titon e Julieta Regina Titon, nasceu em 23 de abril de 1975, em Francisco Beltrão, PR.

Em 1989, concluiu o 1^o grau na Escola Estadual de 1^o e 2^o graus Antonio Ometto, em Matupá, MT.

Em 1992, concluiu o Curso de Magistério na Escola Estadual de 1^o e 2^o graus Antonio Ometto, em Matupá, MT

Em 1998, diplomou-se Engenheira Florestal pela Universidade Federal de Mato Grosso, em Cuiabá, MT.

Em abril de 1999, ingressou no Programa de Pós-Graduação, em nível de mestrado, em Ciência Florestal, na área de Concentração em Silvicultura, na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, submetendo-se à defesa de tese em março de 2001.

ÍNDICE

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
1.INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Propagação clonal de plantas.....	4
2.2. Fatores que afetam o enraizamento de estacas.....	5
2.3. Maturação e juvenilidade.....	6
2.4. Técnicas de rejuvenescimento de plantas.....	8
2.5. Substâncias reguladoras de crescimento.....	10
2.6. Propagação clonal de <i>Eucalyptus</i>	10
2.6.1. Estaquia.....	11
2.6.2. Micropropagação.....	12
2.6.3. Microestaquia.....	13
2.6.4. Miniestaquia.....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1. Material experimental.....	16
3.2. Formação dos jardins clonais.....	17
3.2.1. Jardim microclonal.....	18
3.2.2. Jardim miniclonal.....	19
3.3. Nutrição mineral, irrigação e tratos culturais dos jardins clonais.....	19
3.4. Obtenção e enraizamento das microestacas e miniestacas.....	20
3.5. Avaliações.....	22
3.5.1. Produção, vigor e sobrevivência das microcepas e minicepas.....	22
3.5.2. Sobrevivência, enraizamento e vigor das microestacas e miniestacas.....	22
3.5.3. Vigor de enraizamento das microestacas e miniestacas.....	23
3.5.4. Efeito da aplicação de AIB no enraizamento de microestacas e miniestacas.....	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
4.1. Produção, vigor e sobrevivência das microcepas e minicepas.....	25
4.1.1. Análise de variância.....	25
4.1.2. Sobrevivência das microcepas e minicepas.....	26
4.1.3. Produção de microestacas e miniestacas.....	27
4.1.4. Vigor das microcepas e minicepas.....	29

4.2. Sobrevivência, enraizamento e vigor das microestacas e miniestacas.....	33
4.2.1. Análise de variância	33
4.2.2. Sobrevivência na saída da casa de vegetação	35
4.2.3. Enraizamento na saída da casa de sombra.....	36
4.2.4. Sobrevivência, altura e diâmetro do coleto das mudas aos 50 dias de idade.....	38
4.2.5. Matéria seca de raízes das microestacas e miniestacas.....	43
4.3. Vigor de enraizamento das microestacas e miniestacas.....	45
4.4. Correlações entre características	48
4.5. Efeito da aplicação de AIB no enraizamento de microestacas e miniestacas	49
5. RESUMO E CONCLUSÕES	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60

RESUMO

TITON, Miranda, M. S., Universidade Federal de Viçosa, março de 2001.

Propagação clonal de *Eucalyptus grandis* por miniestaquia e microestaquia. Orientador: Aloisio Xavier. Conselheiros: Geraldo Gonçalves dos Reis e Wagner Campos Otoni.

O presente estudo objetivou avaliar a propagação clonal de quatro clones de *Eucalyptus grandis* pelo uso das técnicas de microestaquia e miniestaquia, analisando-se: a) sobrevivência, vigor e capacidade produtiva das microcepas e minicepas em coletas sucessivas de microestacas e miniestacas; b) sobrevivência, enraizamento e vigor das microestacas e miniestacas; e c) efeito da aplicação do regulador de crescimento AIB (0, 1000, 2000 e 4000 mg l⁻¹) na sobrevivência, no enraizamento e no vigor das microestacas e miniestacas. O jardim microclonal foi constituído de microcepas oriundas de mudas rejuvenescidas por micropropagação, mediante subcultivos *in vitro*, e, no jardim miniclonal, foram utilizadas minicepas obtidas pelo enraizamento de miniestacas oriundas de brotações de plantas propagadas pelo método da estaquia convencional. No enraizamento das microestacas e miniestacas foi utilizada a casa de vegetação, com tempo de permanência variando entre 21 e 28 dias, conforme os tratamentos, com aclimatação de oito dias em casa de sombra e avaliação final das mudas realizada aos 50 dias de idade. De forma geral, não se observou efeito

significativo de rejuvenescimento *in vitro* na sobrevivência, na produção e no vigor das microcepas e minicepas, visto que as duas técnicas apresentaram resultados semelhantes. Para a sobrevivência na saída da casa de vegetação, enraizamento na saída da casa de sombra e sobrevivência das mudas aos 50 dias, foram observados resultados superiores na microestaquia em relação à 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. As mudas oriundas da microestaquia apresentaram altura e diâmetro do coleto aos 50 dias e peso de matéria seca de raiz aos 28 dias iguais ou superiores aos da miniestaquia, reforçando a suposição de maior grau de juvenildade das microestacas em detrimento das miniestacas. O tempo de permanência de 21 dias em casa de vegetação mostrou-se suficiente para enraizamento das microestacas e miniestacas, possibilitando a redução de tempo para obtenção de mudas. Com relação à aplicação de AIB, na miniestaquia se observou aumento nos índices de enraizamento e de sobrevivência das miniestacas, nas dosagens de 1000 e 2000 mg l⁻¹, na maioria dos clones. Na microestaquia, em geral, não se observou efeito do AIB no enraizamento e na sobrevivência das microestacas. Conclui-se, portanto, que clones com maior dificuldade no enraizamento apresentam maior resposta ao rejuvenescimento *in vitro* pelo uso da microestaquia, resultando em aumento nos índices de enraizamento.

ABSTRACT

TITON, Miranda, M.S., Universidade Federal de Viçosa, March 2001. **Clonal propagation of *Eucalyptus grandis* by minicuttings and microcuttings techniques.** Adviser: Aloisio Xavier. Committee members: Geraldo Gonçalves dos Reis and Wagner Campos Otoni.

The objective of this study was to evaluate the clonal propagation of four clones of *Eucalyptus grandis* through the minicuttings and microcuttings techniques, considering: a) survival, vigor and productive capacity of the ministumps and microstumps in successive collections of minicuttings and microcuttings; b) survival, rooting and vigor of the minicuttings and microcuttings; c) the effect of the AIB growth regulator application (0, 1000, 2000, and 4000 mg l⁻¹) in survival, rooting, and vigor of the minicuttings and microcuttings. The microclonal garden was composed by microstumps derived from seedling rejuvenated through micropropagation, by means of *in vitro* subcultivation, and in the miniclonal garden, ministumps obtained by minicuttings derived from rooting sprouting of plants propagated through the conventional cuttings technique were used. In the microcuttings and minicuttings rooting the greenhouse was used, with a permanence time varying from 21 to 28 days, according to the treatments, with an eight day acclimatizing in shadow house and the final seedling evaluation done at 50 days of age. In a general way, a significant *in vitro* rejuvenation effect in the survival, production and

microstumps and ministumps vigor was not observed since both techniques showed similar results. For the survival in the greenhouse exit, rooting in the shadow house exit and survival of the seedlings at 50 days, superior results in the microcuttings techniques in relation to the minicuttings techniques were observed, being this difference more pronounced in clones with greater rooting difficulties, indicating in these cases, a possible rejuvenation of the clones with the microcuttings technique use. The seedlings derived from the microcuttings technique showed high and collect diameter at 50 days and root dry matter weight at 28 days equal or superior to the ones of minicuttings techniques, reinforcing the supposition of the microcuttings greater juvenility degree in prejudice of the minicuttings. The 21 days permanence time in the greenhouse showed to be enough for the microcuttings and minicuttings rooting, making possible the reduction of time for the seedling obtainment. In relation to the AIB application, in the minicuttings technique, an increase in the minicuttings rooting and survival index, in the 1000 and 2000 mg l⁻¹ dosing, in most clones, was observed. In the microcuttings technique, in general, an AIB effect on the microcuttings rooting and survival was not observed. Thus, it was concluded that clones with greater rooting difficulties show greater response to the *in vitro* rejuvenation by the microcuttings technique use, resulting in an increase in the rooting index.

1. INTRODUÇÃO

A propagação clonal de *Eucalyptus* é uma realidade em várias empresas florestais, onde é considerada estratégica na melhoria da produtividade e qualidade de florestas. De modo geral, proporciona uniformidade nos plantios, adaptação de clones específicos para determinados sítios e maximização da produção de madeira em quantidade e qualidade desejáveis para determinados fins, em comparação com plantios oriundos de mudas produzidas por sementes (XAVIER e COMÉRIO, 1996).

Dentre os métodos de propagação clonal de *Eucalyptus* desenvolvidos em escala comercial, o processo de estaquia constitui-se em uma técnica cujos princípios já são bem conhecidos, principalmente devido ao seu fácil manuseio quando comparado com os métodos de micropropagação. Entretanto, o sistema da estaquia apresenta algumas dificuldades no processo de produção, como enraizamento e formação das mudas em certos clones, afetando, conseqüentemente, o desenvolvimento da futura árvore, além da limitação da produção (XAVIER et al., 1997).

A dificuldade de enraizamento de certos clones através da estaquia tem sido atribuída à maturação do material vegetal, levando à adoção de técnicas de reversão ao estado juvenil, mediante a utilização de ferramentas da biotecnologia, como a micropropagação.

Na década de 80, muitas empresas investiram em laboratórios de micropropagação, visando ao rejuvenescimento de clones para produção de mudas para testes clonais, plantios monoclonais e jardins clonais, dentre outros. No entanto, problemas metodológicos envolvidos na cultura de tecidos, aliados ao elevado custo do processo e à necessidade de mão-de-obra especializada, limitaram o seu uso em escala operacional, fato que levou a maioria das empresas a rever seus programas de propagação clonal.

Mais recentemente, com o desenvolvimento da microestaquia, a micropropagação ressurgiu como ferramenta eficiente no rejuvenescimento de propágulos para constituição de jardins microclonais. Dentre as principais vantagens da técnica estão o aumento nos índices de enraizamento, a qualidade da muda produzida e a operacionalização. No entanto, a implementação da técnica da microestaquia depende de laboratório, o que limita, assim, o seu uso em escala comercial, levando à busca de tecnologias alternativas, como a miniestaquia.

A técnica da miniestaquia baseia-se na mesma filosofia da microestaquia, porém sem a passagem pelo laboratório de micropropagação, sendo, dessa maneira, mais acessível. A miniestaquia expandiu-se rapidamente e, atualmente, é a técnica mais utilizada nas empresas florestais.

O estágio atual de desenvolvimento da silvicultura clonal, bem como a demanda por produtos de qualidade e em quantidade compatíveis com as exigências do mercado, tem levado a considerar-se cada vez mais a importância da qualidade da muda, aliada à redução dos custos de produção.

Considerando a importância da propagação clonal de *Eucalyptus* na silvicultura clonal intensiva e a carência de estudos nesta área, torna-se justificável o desenvolvimento de pesquisas que envolvam as técnicas adotadas pelas empresas, como a microestaquia e a miniestaquia, principalmente, no que se refere à avaliação da sua eficiência na produção de mudas.

Assim, o presente estudo objetivou avaliar a eficiência da propagação clonal de quatro clones de *Eucalyptus grandis*, através das técnicas de microestaquia e de miniestaquia, analisado-se: a) sobrevivência, vigor e

capacidade produtiva das microcepas e minicepas em coletas sucessivas de microestacas e miniestacas; b) sobrevivência, enraizamento e vigor das microestacas e miniestacas; e c) efeito da aplicação de diferentes dosagens do regulador de crescimento AIB (0, 1000, 2000 e 4000 mg l⁻¹) na sobrevivência, no enraizamento e no vigor das microestacas e miniestacas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Propagação clonal de plantas

A propagação clonal ou vegetativa consiste na produção de novos indivíduos a partir de uma única planta doadora, utilizando-se, para isso, partes da planta (ramos, gemas, estacas, folhas, células, raízes e outros) (HARTMANN et al., 1997). Cada planta individualmente produzida é, em princípio, geneticamente idêntica à planta-mãe, justificando-se sua adoção em programas de produção de mudas das empresas florestais (PAIVA et al., 1996).

Na área florestal, os japoneses têm utilizado a propagação vegetativa de *Cryptomeria japonica* há mais de 1000 anos (Ono, 1972 citado por MALAVASI, 1994). No entanto, foi a partir do século XIX que a silvicultura clonal tornou-se a principal estratégia para produção comercial de árvores, incluindo o *Eucalyptus* na América do Sul, África do Sul e Europa, *Pinus* na Nova Zelândia e álamo e salgueiro nos Estados Unidos e na Europa (HARTMANN et al., 1997).

As principais razões do uso da clonagem em espécies florestais incluem fixação de genótipos superiores (HARTMANN et al., 1997), maior uniformidade e produtividade dos plantios (CHAPERON, 1987; BONGA e VON ADERKAS, 1992; COMÉRIO et al., 1996; ASSIS, 1996a), adaptação de clones específicos para determinados sítios (XAVIER e COMÉRIO, 1996), racionalização das

atividades operacionais e redução nos custos de exploração e transporte (FERREIRA, 1992) e melhoria da qualidade da madeira e de seus produtos (BERTOLUCCI e PENCHEL, 1991), dentre outras.

Entre as técnicas de propagação clonal utilizadas em grande escala, a estaquia tem sido a mais difundida, com grandes avanços tecnológicos no enraizamento de estacas, através de inovações nas estruturas de casas de vegetação, sistemas de nebulização e de controle ambiental, bem como aplicação de hormônios (HARTMANN et al., 1997).

O aprimoramento no enraizamento de estacas também tem sido conseguido com o desenvolvimento das técnicas da microestaquia (ASSIS et al., 1992; XAVIER e COMÉRIO, 1996) e da miniestaquia (XAVIER e WENDLING, 1998; WENDLING et al., 2000a), que possibilitaram consideráveis ganhos decorrentes, principalmente, do aumento dos índices de enraizamento e da redução do tempo para formação da muda.

2.2. Fatores que afetam o enraizamento de estacas

A formação de raízes adventícias e gemas é dependente da desdiferenciação de células da planta e do desenvolvimento de um sistema radicular ou parte aérea. O processo de desdiferenciação é uma característica que certas células diferenciadas apresentam de serem capazes de iniciar divisões celulares e formar um novo ponto de crescimento meristemático. O conhecimento do maior ou menor pronunciamento dessas características das células na planta auxilia na definição das melhores condições de manipulação para regenerar plantas (HARTMANN et al., 1997).

Fatores exógenos e endógenos podem influenciar a capacidade e a velocidade do enraizamento de estacas. Dentre esses fatores, podem-se citar as condições de ambiente (luz, umidade e temperatura), estágio fisiológico, tipo de propágulo e sua origem na planta-mãe (GOMES, 1987; MALAVASI, 1994),

espécie ou clone utilizados (GONÇALVES, 1982; ZOBEL e TALBERT, 1984; CHALFUN, 1989; SILVA, 1990) e as condições de maturação (BONGA, 1982; HACKETT, 1987; GOMES, 1987; HUANG et al., 1990; GEORGE, 1993).

Alguns desses fatores já são bem compreendidos e relatados. No entanto, a maturação e a juvenilidade ainda não são suficientemente conhecidos, tornando-se importante a sua investigação.

2.3. Maturação e juvenilidade

O desenvolvimento das plantas lenhosas pode ser separado em duas fases, conhecidas como juvenil e adulta (GONÇALVES, 1982; HACKETT, 1987; HUANG et al., 1990). A progressão da juvenilidade para maturidade é freqüentemente denominada maturação e, em espécies perenes, pode se estender por muitos anos (HUANG et al., 1990).

As duas fases são também freqüentemente distintas por características que incluem diferenças na filotaxia, tamanho e forma das folhas, cor das folhas e galhos, hábito de crescimento, competência à reprodução sexual e habilidade de formação de raízes adventícias, dentre outras (GONÇALVES, 1982; HUANG et al., 1990; GREENWOOD e HUTCHISON, 1993).

Em algumas espécies, certas características apresentam morfologicamente mudanças bruscas quando as plantas atingem a maturação, enquanto noutras a transição é gradual, muito embora se trate da mesma essência (BONGA, 1982; GOMES, 1987).

O evento da maturação não é um fenômeno isolado, pois envolve uma série de processos (HACKETT e MURRAY, 1993) e assume aspectos diversos nas diferentes partes da árvore, por isso não está claramente definida, na maioria das espécies, a transição do estágio juvenil para o de maturação (BONGA, 1982; GOMES, 1987).

Em espécies lenhosas, a aptidão à propagação vegetativa está associada ao grau de maturação (BONGA, 1982), e a fase juvenil, na maioria das plantas, apresenta maior potencial de enraizamento quando comparada com a fase adulta (BONGA, 1982; GEORGE, 1993; HARTMANN et al., 1997). Esse potencial pode ser expresso tanto em percentagem quanto pelo tempo requerido para verificação do evento e, ainda, pela qualidade das próprias raízes (GOMES, 1987).

Na propagação clonal, o conhecimento de órgãos e tecidos juvenis é de relevante importância, pois depende da habilidade da propagação massal de propágulos juvenis, que não exibem somente facilidade de enraizamento, mas também produzem fenótipos desejáveis de mudas juvenis (GOMES, 1987; AHUJA, 1993).

BONGA (1982) considerou que, dentro de uma mesma árvore, existem zonas que mantêm por mais tempo a juvenilidade e são suscetíveis de ser estimuladas à produção de material vegetativo fisiologicamente mais juvenil. Em algumas espécies, especialmente as lenhosas, essas zonas apresentam-se em forma de gradiente de juvenilidade em direção à base da árvore (ZOBEL e TALBERT, 1984; ELDRIDGE et al., 1994), promovendo aumento da maturação em função da maior proximidade com o meristema apical (GREENWOOD e HUTCHISON, 1993).

Estacas coletadas de brotações mais próximas à base das árvores são, geralmente, mais fáceis de enraizar do que aquelas coletadas de áreas maduras da árvore (HACKETT, 1987). Essa maior juvenilidade da região basal das plantas se deve ao fato de que os meristemas mais próximos da base formaram-se em épocas mais próximas à germinação do que os de regiões terminais (HARTMANN et al., 1997). Por essa razão, sustenta-se a hipótese de que a maturação tem base celular (HARTMANN et al., 1997) e o estado de maturação é função de divisões celulares cumulativas (GREENWOOD e HUTCHISON, 1993).

Geralmente, as dificuldades de enraizamento de brotações adultas têm sido atribuídas às alterações fisiológicas, como a menor quantidade de auxinas

em relação aos inibidores na sua constituição interna (Paton et al., citados por IRITANI e SOARES, 1983). No entanto, estacas ou explantes de brotações maduras estão freqüentemente mais sujeitos a necroses do que os de brotações juvenis, o que também pode ser devido à maior contaminação por microrganismos (GEORGE, 1993).

2.4. Técnicas de rejuvenescimento de plantas

Em vista das dificuldades de enraizamento apresentadas pelo material maduro, o rejuvenescimento de células e tecidos é, provavelmente, um dos mais importantes aspectos para o alcance efetivo da clonagem (BONGA, 1982), podendo ser considerado uma forma de reverter as plantas de estágio maduro para o juvenil, restaurando, dessa maneira, sua competência ao enraizamento (HACKETT e MURRAY, 1993).

Diversas práticas têm sido adotadas para obter brotações juvenis ou promover o rejuvenescimento de tecidos adultos (FRANCLET et al., 1987), podendo ser realizadas tanto em condições *in vivo* quanto *in vitro*.

Um modelo básico, amplamente utilizado na clonagem de plantas adultas de difícil enraizamento, como o eucalipto e a macieira, consiste na obtenção de explantes de brotações surgidas na base da planta, utilizando-se artifícios como injúria mecânica das raízes e poda drástica alguns centímetros acima do colo (FRANCLET et al., 1987; ASSIS e TEIXEIRA, 1998). A decepa da árvore é comumente utilizada, mas quando isso não é possível, recomendam-se o anelamento parcial e a aplicação de produtos, como etileno, giberelinas e citocinina, na base do tronco (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

O rejuvenescimento mediante enxertia de ramos adultos em porta-enxertos obtidos de sementes tem sido bastante relatado, apresentando maior êxito quando realizado em cascata, por sucessivas enxertias, sempre utilizando as novas brotações formadas no enxerto (FRANCLET et al., 1987; SINISCALCO e PAVOLETONI, 1988; GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). Essa técnica

tem limitações, como a demanda de muito tempo (ELDRIGE et al., 1994) e problemas de incompatibilidade (PAIVA e GOMES, 1995).

A produção de propágulos juvenis com alto potencial de regeneração pode também ser obtida pela microenxertia (JONARD, 1986; HUANG et al., 1990; GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998; PAZ e PASQUAL, 1998) e tem sido relatada com sucesso para diversas espécies arbóreas, como *Larix decidua* (EWALD e KRETZSCHMAR, 1996), *Acacia mangium* (MONTEUUIS, 1995), *Persea americana* (PLIEGO-ALFARO e MURASHIGE, 1987) e *Quercus rubra* (ZACZEK e STEINER, 1997).

A juvenilidade pode ser induzida através de estiolamento dos propágulos, tratamentos térmicos, tratamentos com reguladores de crescimento (GEORGE, 1993), tratamentos com raios X, neodiferenciação de gemas, apomixia e meiose de células (GONÇALVES, 1982).

O rejuvenescimento de tecidos adultos também pode ser obtido pela micropropagação, por subcultivos sucessivos *in vitro* em meio de cultura contendo citocinina (GONÇALVES, 1982; BONGA e VON ADERKAS, 1992; ASSIS e TEIXEIRA, 1998; GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). A restauração de características juvenis, como o maior potencial de enraizamento, tem sido observada em *Eucalyptus* com o aumento do número de subcultivos (CHAPERON, 1987; ZOBEL, 1993; HACKETT e MURRAY, 1993; XAVIER e COMÉRIO, 1996; ASSIS et al., 1996a).

Um sistema utilizado com sucesso na estaquia de *Eucalyptus* no Brasil é o rejuvenescimento por podas sucessivas em jardins clonais, aumentando a produção de propágulos e mantendo a juvenilidade (CAMPINHOS e IKEMORI, 1980).

Dentro do processo de enraizamento de estacas, as técnicas de microestaquia (ASSIS et al., 1992; XAVIER e COMÉRIO, 1996) e, mais recentemente, miniestaquia (XAVIER e WENDLING, 1998; WENDLING et al., 2000a) têm sido utilizadas com êxito na propagação clonal de *Eucalyptus*.

2.5. Substâncias reguladoras de crescimento

Auxinas, citocininas, giberelinas, etileno, ácido abscísico, poliaminas, fenóis etc. influenciam, direta ou indiretamente, a iniciação de raízes. Porém, as auxinas têm apresentado maiores efeitos na formação de raízes em estacas (HARTMANN et al., 1997).

Aplicações exógenas de auxina proporcionam maior percentagem, velocidade, qualidade e uniformidade de enraizamento (HARTMANN e KESTER, 1978). Dentre as auxinas mais conhecidas e utilizadas no enraizamento de estacas, têm-se ácido indolacético (AIA), ácido indol-butírico (AIB), ácido naftaleno acético (ANA) e o 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) (PAIVA e GOMES, 1995; BLAZICH, 1987). As concentrações do produto ativo variam com a espécie (WILSON, 1994b), o clone (CHUNG et al., 1994), o estado de maturação do propágulo (GOMES, 1987) e a forma de aplicação, que pode ser utilizada via líquido e via talco (BLAZICH, 1987).

Para propagação vegetativa de *Eucalyptus* por estaquia, o regulador de crescimento de maior uso tem sido o AIB, com melhores resultados apresentados em concentrações de 6000 a 8000 mg l⁻¹ (WILSON, 1994a). O aprimoramento das técnicas de enraizamento de estacas tem levado à utilização de concentrações mais baixas de AIB e, em alguns casos, até a sua supressão. Para microestaquia, o uso de regulador de crescimento não tem sido indicado (ASSIS et al., 1992; XAVIER e COMÉRIO, 1996; ASSIS, 1997), ao passo que, para miniestaquia, WENDLING et al. (2000b), utilizando dosagens entre 1000 e 3000 mg l⁻¹ de AIB, verificaram superioridade na sobrevivência e no enraizamento de miniestacas

2.6. Propagação clonal de *Eucalyptus*

No gênero *Eucalyptus*, a propagação vegetativa é uma realidade que, em maior ou menor grau de sofisticação, está presente em grande parte das empresas

florestais que adotaram a silvicultura clonal. Entre as técnicas mais utilizadas estão a estaquia, a micropropagação, a microestaquia e a miniestaquia.

2.6.1. Estaquia

A técnica consiste fundamentalmente em destacar da planta original um órgão, ramo, uma folha ou raiz e colocá-los em um meio adequado, para que se forme um sistema radicular e, ou, desenvolva a parte aérea (PAIVA e GOMES, 1995). Envolve 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 estaca (MALAVASI, 1994).

O primeiro trabalho de propagação de *Eucalyptus* por enraizamento de estacas data de 1954, no Marrocos, o que evidencia a possibilidade da utilização da técnica (ASSIS, 1996a). Nos anos 60, o mesmo sucesso foi obtido em trabalhos realizados na Itália, Austrália e Tunísia (CHAPERON, 1987). No Brasil, os trabalhos pioneiros com sucesso no enraizamento de estacas de *Eucalyptus* remontam ao ano de 1975 (IKEMORI, 1975), sendo a primeira plantação clonal comercial instalada em 1979.

Quanto ao processo da estaquia, 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 permanecem em 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, elas são aclimatadas em casa de sombra e, em seguida, transferidas para um local a 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 (WENDLING, 1999).

A propagação vegetativa por enraizamento de estacas representa um dos maiores avanços tecnológicos na área florestal (HARTMANN et al., 1997), com ganhos expressivos em crescimento e qualidade da madeira (FERREIRA, 1992), sendo muito difundida entre as empresas florestais (GOMES, 1987; XAVIER e COMÉRIO, 1996).

No entanto, dificuldades no processo de produção de mudas, como de enraizamento e formação das mudas (XAVIER et al., 1997) envolvendo material adulto e variação entre genótipos (ASSIS, 1997), têm limitado o seu uso e levado ao desenvolvimento de novas técnicas.

2.6.2. Micropropagação

A cultura de tecidos consiste no cultivo de órgãos, tecidos ou células vegetais em meio nutritivo apropriado, em ambiente asséptico (Otoni, 1984, citado por PAIVA e GOMES, 1995), sendo a micropropagação a aplicação mais prática e de maior impacto da cultura de tecidos (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

A partir de 1970, o cultivo *in vitro* de espécies florestais foi bastante desenvolvido na tentativa de solucionar problemas básicos e de propor novas alternativas para propagação vegetativa de espécies lenhosas (BERTOLOTI e GONÇALVES, 1979).

As técnicas de cultivo de tecidos e órgãos podem constituir alternativa econômica e adequada em relação aos métodos clássicos de propagação vegetativa de *Eucalyptus*, pois, além de oferecerem a possibilidade de propagação de árvores selecionadas de todas as idades (Cresswell e Fossard, 1974, citados por ALVAREZ e RESTREPO, 1993), possibilitam a limpeza clonal (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998; CHAPERON, 1987), e a alta taxa de multiplicação acelera os programas de propagação clonal, possibilitando

a propagação vegetativa de híbridos de *Eucalyptus* de alto valor e difícil enraizamento pelos métodos convencionais (RATNIEKS e ASSIS, 1993).

A obtenção de material clonal através da micropropagação objetiva, principalmente, a redução do efeito “C”, que segundo Gonçalves (1991), citado por FERREIRA (1992), tem sido contornado em parte através da reversão à juvenilidade e pela redução ou eliminação dos efeitos da topófise e ciclófise.

De acordo com CHAPERON (1987), a micropropagação de *Eucalyptus* deve ser usada nos seguintes casos: 1) com espécies que não são propagadas facilmente através da macropropagação; 2) quando a árvore selecionada não pode ser rejuvenescida através da promoção de brotações basais (por exemplo, árvore protegida em parques ou áreas privadas); e 3) quando o objetivo é aumentar a taxa de propagação no estágio inicial de um programa de reflorestamento ou quando se deseja encurtar o tempo de seleção e uso comercial do clone. No entanto, essa técnica apresenta desvantagens, 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 utilização efetiva em programas de reflorestamento (BONGA e VON ADERKAS, 1992)

A micropropagação de *Eucalyptus* atualmente tem sido utilizada no rejuvenescimento de clones, visando à formação do jardim microclonal, para produção de microestacas

2.6.3. Microestaquia

A microestaquia é uma técnica de propagação assexuada, cujo desenvolvimento e aplicação em *Eucalyptus* tiveram como origem os trabalhos realizados por ASSIS et al. (1992). Caracteriza-se pela utilização de plantas rejuvenescidas *in vitro* como fonte de propágulos vegetativos, onde ápices caulinares dessas plantas são coletados e utilizados como microestacas, as quais

são colocadas para enraizar em ambiente de casa de vegetação, com controle de umidade e temperatura. As microestacas possuem tamanho em torno de 3 cm e contêm de dois a três pares de folhas (ASSIS, 1997).

Entre as vantagens apresentadas pela microestaquia em relação à técnica de estaquia convencional, podem-se destacar: maiores índices de enraizamento; redução do tempo de formação da muda no viveiro e dos 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 (IANELLI et al., 1996); melhor qualidade do sistema radicular (ASSIS, 1997); maior taxa de crescimento e sobrevivência das mudas no campo (XAVIER et al., 1997); e não-necessidade da aplicação de reguladores de crescimento para enraizamento (XAVIER e COMÉRIO, 1996).

No entanto, a microestaquia apresenta desvantagens e limitações, como maior sensibilidade das microestacas às condições ambientais e dependência de laboratório de micropropagação para rejuvenescimento de material, onerando, assim, a produção de mudas, além de limitar sua utilização, em vista das dificuldades de rejuvenescimento de algumas espécies/clones (ASSIS, 1997).

2.6.4. Miniestaquia

As limitações da microestaquia levaram à utilização da miniestaquia, que surgiu do questionamento da utilização da filosofia da técnica de microestaquia no processo de produção de mudas sem a fase de laboratório (XAVIER e WENDLING, 1998). ASSIS (1996b e 1997) fez considerações sobre a possibilidade de estabelecimento de um sistema que tivesse como origem ápices de brotações de estacas enraizadas em vez de plantas micropropagadas, com resultados preliminares promissores.

A técnica da miniestaquia constitui-se na utilização de brotações de plantas propagadas pelo método de estaquia convencional como fontes de

propágulos vegetativos. Inicialmente, faz-se a poda do ápice da brotação enraizada (muda com aproximadamente 60 dias de idade) e em intervalos de 10 a 25 dias (variáveis em razão da época do ano, do clone/espécie e das condições nutricionais, entre outras), a qual emite novas brotações, que são coletadas e postas para enraizar. Assim, a parte basal da brotação da estaca constitui-se em uma minicepa, que fornecerá as brotações (miniesticas) para formação das futuras mudas, sendo o conjunto das minicepas denominado “jardim miniclonal” (WENDLING, 1999). De modo geral, esta técnica apresenta maior sensibilidade às condições ambientais quando comparada com a da estaquia convencional, principalmente pelo fato de se trabalhar com material vegetativo mais tenro e manejado de forma intensiva (WENDLING et al., 2000a).

Apesar de recente, a miniestaquia é a técnica atualmente mais utilizada pelas empresas na propagação clonal de *Eucalyptus*. Sua aplicabilidade está no fato de ser uma opção para a propagação vegetativa de certos clones que apresentam dificuldades no cultivo *in vitro* e inviabilizam sua multiplicação pela micropropagação (XAVIER e WENDLING, 1998), bem como na maximização da propagação clonal em relação à estaquia convencional.

Em situações em que a miniestaquia apresenta resultados tão eficientes quanto os da microestaquia e, ou, nas situações em que não há infra-estrutura de micropropagação disponível, a miniestaquia pode ser a técnica mais indicada para produção de mudas de *Eucalyptus* (WENDLING et al., 2000a).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material experimental

Foram utilizados quatro clones de *Eucalyptus* provenientes da Empresa Celulose Nipo-Brasileira S.A. (CENIBRA), localizada no Município de Belo Oriente, MG, sendo dois clones de *Eucalyptus grandis* (CC1 e CC8) e dois de híbridos de *Eucalyptus grandis* – Rio Claro, SP (CC11 e CC12).

O trabalho foi constituído de duas etapas, sendo a primeira referente à produção de mudas micropropagadas para obtenção do material experimental da microestaquia. Essa etapa foi desenvolvida no Laboratório de Cultura de Tecidos II do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária da Universidade Federal de Viçosa (BIOAGRO) e no Viveiro de Pesquisas do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, no período de abril de 1999 a agosto de 2000.

A segunda etapa foi composta pela avaliação da eficiência da microestaquia e da miniestaquia em condições experimentais, sendo esta desenvolvida no Viveiro Florestal da Empresa Celulose Nipo-Brasileira (CENIBRA), localizada no Município de Belo Oriente, Minas Gerais, no período de setembro a dezembro de 2000.

O Município de Belo Oriente, MG, está localizado na região do Vale do Rio Doce, com clima do tipo Cwa (temperado, chuvoso e mesotérmico), segundo a classificação de Köppen, latitude de 19°18'23''S e longitude de 42°22'46''O e altitude média de 363 m. Apresenta precipitação média anual de 1.233 mm, temperatura média anual de 21 °C, máxima de 27 °C e mínima de 14 °C.

3.2. Formação dos jardins clonais

A partir de material vegetativo de microestacas e miniestacas, os jardins clonais foram instalados no viveiro florestal da CENIBRA, localizado em condições cobertas (Figura 1), constituídos pelos clones em estudo. Como recipientes para as microcepas e minicepas foram utilizados tubetes de plástico de 55 cm³, contendo substrato constituído de partes iguais de vermiculita de granulometria média e casca de arroz carbonizada.



Figura 1 – Jardins microclonal e miniclonal dispostos em delineamento experimental.

3.2.1. Jardim microclonal

As mudas utilizadas na formação do jardim microclonal foram provenientes de material micropropagado, através da proliferação de gemas axilares. O meio de cultura utilizado foi composto pelos sais básicos de MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), vitaminas de White (WHITE, 1943), acrescidos de mio-inositol (100 mg l^{-1}), PVP (polivinilpirrolidona) (800 mg l^{-1}), sacarose (3%), ágar Sigma (0,7%) e ANA (ácido naftalenoacético) e BAP (6-benzilaminopurina), conforme a fase da cultura.

Durante a fase de multiplicação, os clones passaram por sucessivos subcultivos em meio de cultura adequado à multiplicação dos explantes, tendo por finalidade obter o rejuvenescimento. O número de subcultivos realizados variou entre os clones, de acordo com a resposta das gemas à multiplicação e os indícios de alongamento, sendo: CC1 = 7 a 9, CC8 = 9 a 10, CC11 = 12 a 13 e CC12 = 11 a 12, os quais, posteriormente, foram transferidos para o meio adequado ao alongamento das gemas.

As gemas alongadas *in vitro* foram transplantadas em casa de vegetação, para o enraizamento *ex vitro*, em tubetes plásticos de 55 cm^3 contendo substrato constituído de partes iguais de vermiculita de granulometria média e casca de arroz carbonizada. Essa fase foi realizada no Viveiro de Pesquisas Florestais do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG.

Após o enraizamento em casa de vegetação (permanência de 30 dias), as mudas foram transferidas para aclimação em casa de sombra, com sombrite 50%, por um período de 10 dias, seguidas, posteriormente, de rustificação a pleno sol. Ao alcançarem 10 a 12 cm de tamanho, as mudas tiveram seus ápices podados na altura de 8 cm, para a obtenção das microcepas, que forneceram as microestacas e formaram o jardim microclonal, conforme descrito em XAVIER e COMÉRIO (1996).

A partir das microcepas formadas, estas foram transferidas para o Viveiro Florestal da CENIBRA, constituindo o jardim microclonal.

3.2.2. Jardim miniclonal

Baseando-se na técnica de miniestaquia descrita por XAVIER e WENDLING (1998) e em procedimentos de manejo adotados pela CENIBRA, o jardim miniclonal foi constituído de minicepas, obtidas pelo enraizamento de miniestacas oriundas das brotações de plantas propagadas pelo método da estaquia convencional.

As miniestacas enraizadas, ao atingirem 10 a 12 cm de tamanho, tiveram seus ápices podados na altura de 8 cm, constituindo, assim, as minicepas, que forneceram as brotações (miniestacas). O conjunto das minicepas constituiu o jardim miniclonal, que forneceu as miniestacas para realização do experimento.

As miniestacas utilizadas tiveram o mesmo padrão das microestacas, variando de 4 a 6 cm de tamanho, com dois a três pares de folhas reduzidas pela metade de sua dimensão original.

Esta fase foi desenvolvida no Viveiro Florestal da CENIBRA.

3.3. Nutrição mineral, irrigação e tratos culturais dos jardins clonais

O sistema de manejo do jardim clonal adotado foi o mesmo utilizado pela Empresa, o qual foi composto por bandejas de inox, sobre as quais permaneceram as microcepas e minicepas, acondicionadas em tubetes dispostos em bandejas de plástico rígido (Figura 1).

A irrigação e a nutrição mineral foram efetuadas através de um sistema automatizado de fertirrigação por inundação, de maneira que somente o sistema radicular permanecia em contato com a solução nutritiva. Esta solução continha nitrato de cálcio (555 g/m^3), sulfato de amônio (200 g/m^3), ácido fosfórico (70 g/m^3), cloreto de potássio (210 g/m^3), sulfato de magnésio (150 g/m^3), ácido bórico ($3,33 \text{ g/m}^3$), sulfato de zinco ($0,15 \text{ g/m}^3$), sulfato de cobre ($0,40 \text{ g/m}^3$),

sulfato de manganês ($1,67 \text{ g/m}^3$), sulfato ferroso ($5,22 \text{ g/m}^3$), EDTA ($6,96 \text{ g/m}^3$) e molibdato de sódio ($0,05 \text{ g/m}^3$).

Semanalmente, as microcepas e minicepas foram irrigadas por um sistema de aspersão durante 30 minutos, visando à remoção do acúmulo de sais no substrato.

Com relação ao uso de fungicidas nos jardins clonais, foi aplicada, semanalmente, uma mistura de Benlate (1 g l^{-1}) e Captan ($2,4 \text{ g l}^{-1}$).

3.4. Obtenção e enraizamento das microestacas e miniestacas

As microestacas e miniestacas com dimensões variando de 4 a 6 cm de tamanho foram coletadas nos jardins microclonal e miniclonal e acondicionadas em recipientes contendo água, para manter as condições de turgescência até a etapa de enraizamento. O período entre a confecção das microestacas e miniestacas e o estaqueamento no substrato, na casa de vegetação, foi inferior a 15 minutos.

Para enraizamento e formação das mudas, as microestacas e miniestacas foram colocadas para enraizamento em casa de vegetação (Figura 2), em tubetes de plástico de 55 cm^3 contendo substrato constituído de partes iguais de vermiculita de granulometria média e casca de arroz carbonizada.

A nutrição mineral utilizada no substrato foi composta por superfosfato simples (8 kg/m^3) e pela solução de sulfato de amônio (20 kg/m^3), cloreto de potássio ($3,33 \text{ kg/m}^3$), sulfato de zinco ($0,22 \text{ kg/m}^3$), sulfato de cobre ($0,22 \text{ kg/m}^3$) e ácido bórico ($0,39 \text{ kg/m}^3$), sendo, desta solução, aplicados cinco litros por 100 litros de substrato.

Foram utilizados dois tempos de permanência em casa de vegetação (21 e 28 dias), e, posteriormente, as microestacas e miniestacas foram transferidas para casa de sombra (permanência de oito dias para aclimação) e, finalmente, a pleno sol até completarem 50 dias de idade (Figura 3).



Figura 2 – Enraizamento das microestacas e miniestacas em casa de vegetação.



Figura 3 – Microestacas e miniestacas enraizadas em crescimento a pleno sol.

3.5. Avaliações

3.5.1. Produção, vigor e sobrevivência das microcepas e minicepas

Os jardins clonais foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado, segundo o esquema fatorial constituído de duas técnicas (microestaquia e miniestaquia) e quatro clones (CC1, CC8, CC11 e CC12), com seis repetições e 20 microcepas/minicepas por repetição. A capacidade produtiva das microcepas e das minicepas foi avaliada mediante coletas semanais de microestacas e de miniestacas durante 60 dias, totalizando oito coletas. Para avaliação da produção mensal, considerou-se a soma de quatro coletas semanais. Nesse período, observou-se, também, a sobrevivência das microcepas/minicepas a cada coleta.

Para avaliação do vigor das microcepas e minicepas, foi realizada uma poda drástica nas microcepas e minicepas e, posteriormente, feito o acompanhamento da velocidade de emissão das brotações através de medições efetuadas aos 3, 6, 9, 15 e 20 dias, adotando-se três classes de tamanho (1 = 0,5 a 2,0 cm; 2 = 2,1 a 4,0 cm; e 3 = > 4,0 cm). Ao término dos 20 dias, foi realizada a avaliação do peso de matéria seca das brotações. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, no esquema fatorial constituído de quatro clones e duas técnicas, em seis repetições e parcelas compostas de uma microcepa/minicepa.

Os dados resultantes foram submetidos a análise de variância, testes de médias (teste de Scott-Knott) e correlações.

3.5.2. Sobrevivência, enraizamento e vigor das microestacas e miniestacas

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, segundo o esquema fatorial constituído de duas técnicas (microestaquia e

miniestaquia), quatro clones (CC1, CC8, CC11 e CC12) e dois tempos de permanência em casa de vegetação (21 e 28 dias), com seis repetições, sendo cada parcela composta de 16 plantas.

Foram realizadas as seguintes avaliações:

- a) Sobrevivência das microestacas e miniestacas na saída da casa de vegetação, considerando-se os tratamentos de 21 e de 28 dias de permanência em casa de vegetação.
- b) Percentagem de enraizamento das microestacas e miniestacas na saída da casa de sombra, considerando-se a permanência de oito dias.
- c) Sobrevivência, altura e diâmetro do coleto das mudas aos 50 dias de idade.
- d) Peso de matéria seca das raízes das microestacas e miniestacas aos 28 dias após o estaqueamento.

Os dados resultantes foram submetidos a análise de variância, testes de médias (teste de Tukey) e correlações.

3.5.3. Vigor de enraizamento das microestacas e miniestacas

O vigor de enraizamento das microestacas e miniestacas foi observado durante a permanência em casa de vegetação, por meio de avaliações aos 10, 14, 17, 21, 24 e 28 dias, quando foram determinados número de raízes, comprimento total de raízes, comprimento da maior raiz e comprimento médio das raízes das microestacas e miniestacas.

O experimento foi instalado segundo o delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial constituído de quatro clones e duas técnicas, em seis repetições e parcelas compostas de 32 plantas. Em cada avaliação (aos 10, 14, 17, 21, 24 e 28 dias), foram utilizadas duas microestacas/miniestacas.

3.5.4. Efeito da aplicação de AIB no enraizamento de microestacas e miniestacas

Buscando avaliar o efeito da aplicação de AIB no enraizamento das microestacas e miniestacas, foram utilizadas quatro concentrações (0, 1000, 2000 e 4000 mg l⁻¹), via líquido, dissolvido em hidróxido de sódio (NaOH) e diluído com água destilada. As microestacas e miniestacas tiveram suas bases mergulhadas na solução de regulador por um período de 10 segundos antes de serem estaqueadas no substrato.

Na avaliação da aplicação de AIB, foram utilizados tempo de permanência em casa de vegetação de 25 dias, aclimação durante oito dias em casa de sombra e rustificação a pleno sol por 50 dias. Avaliaram-se: sobrevivência na saída da casa de vegetação; percentagem de enraizamento na saída da casa de sombra; e sobrevivência, altura e diâmetro das mudas aos 50 dias de idade

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 4 x 4, constituído de duas técnicas, quatro dosagens de AIB e quatro clones (CC1, CC8, CC11 e CC12), em seis repetições e parcelas compostas de oito plantas. Os dados obtidos foram analisados através de análise de variância.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Produção, vigor e sobrevivência das microcepas e minicepas

4.1.1. Análise de variância

Os resultados da análise de variância da produção de microestacas e miniestacas por microcepas e minicepas, respectivamente, encontram-se no Quadro 1. Observa-se, nesse quadro, que houve efeito significativo ($P < 0,05$) pelo teste F, quanto à interação clones, técnicas utilizadas e coletas realizadas.

Esses resultados indicam a diversidade de resposta dos clones em relação às técnicas de microestaquia e miniestaquia e às coletas sucessivas, concordando com resultados obtidos por XAVIER e COMÉRIO (1996) e WENDLING (1999), o que reforça a importância do efeito do material genético na propagação vegetativa (CHALFUN, 1989; ZOBEL, 1993).

Os coeficientes de variação experimental obtidos para produção mensal e por coleta de microestacas e miniestacas foram de 7,15 e 17,58%, respectivamente, indicando boa precisão experimental, o que concorda com resultados encontrados por WENDLING (1999) com relação a essa mesma característica.

Quadro 1 – Resultados da análise de variância da produção de microestacas e miniestacas por microcepas e minicepas por coleta (PC) e mensal (PM) dos quatro clones de *Eucalyptus grandis*, avaliados em oito coletas

FV	GL		Quadrados Médios	
	PC	PM	PC	PM
Clone (Clo)	3	3	3,4933**	13,9731**
Técnica (Tec)	1	1	7,7345**	30,9379**
Coleta (Col)	7	1	10,9747**	36,3712**
Clo * Tec	3	3	2,7834**	11,1334**
Clo * Col	21	3	0,8356**	1,4841*
Tec * Col	7	1	0,9797**	7,6022**
Clo * Tec * Col	21	3	0,4559**	3,1971**
Resíduo	320	80	0,1605	0,4247
Média geral			2,28	9,12
CV (%)			17,58	7,15

* e ** = significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

4.1.2. Sobrevivência das microcepas e minicepas

Com relação à sobrevivência das microcepas e minicepas, observou-se mortalidade praticamente nula no decorrer das oito coletas realizadas. A taxa de sobrevivência das microcepas e minicepas (superior a 98%) indicou alto potencial de resposta dos clones à emissão de novas brotações, através do sistema de coleta, concordando com os resultados obtidos por WENDLING et al. (2000a) em miniestaquia.

Os resultados aqui obtidos evidenciam que a metodologia adotada no presente estudo, quanto à condução dos jardins clonais, é tecnicamente viável, possibilitando a produção de microestacas e miniestacas de *Eucalyptus grandis* em sucessivas coletas.

4.1.3. Produção de microestacas e miniestacas

A produção de microestacas e miniestacas dos clones individualmente ao longo das oito coletas, bem como as médias dos quatro clones por coleta, está representada na Figura 4.

Em termos gerais, a produção de microestacas/microcepa e de miniestacas/minicepa mostrou-se semelhante, exceto com relação ao clone CC1, cujos resultados, obtidos por meio da miniestaquia, foram superiores aos da microestaquia. Considerando os quatro clones, a produção média mensal foi de 8,5 e 9,7 na microestaquia e na miniestaquia, respectivamente.

Comparando esses resultados com os obtidos por XAVIER e COMÉRIO (1996) e WENDLING et al. (2000a), percebem-se redução do intervalo entre uma coleta e outra e aumento na produção por coleta. Provavelmente, essa diferença esteja associada ao sistema de manejo adotado de fertirrigação, em que a nutrição equilibrada permitiu maior desenvolvimento das brotações.

A produção de microestacas e miniestacas variou entre os clones e entre as coletas realizadas, no entanto, em todos os clones, houve tendência cíclica. Nas coletas de números 4 e 5 houve ligeiro decréscimo nos valores de produção, sendo tais valores, a partir da sexta coleta, aumentados e mais estáveis até a realização da última coleta.

O comportamento cíclico pode estar relacionado a um efeito de exaustão temporária das microcepas e minicepas, ocasionando menores produções. No entanto, a produção de microestacas, de acordo com ASSIS et al. (1992) e XAVIER e COMÉRIO (1996), e de miniestacas, segundo WENDLING (1999), também apresenta variação de acordo com a temperatura, que pode influenciar a emissão de novas brotações.

Na microestaquia não houve grande variação dos valores médios das oito coletas de cada clone, sendo esses valores semelhantes ou muito próximos da média geral dos quatro clones. A miniestaquia, no entanto, apresentou maior variação das médias de cada clone em relação à média geral de 2,4, sendo

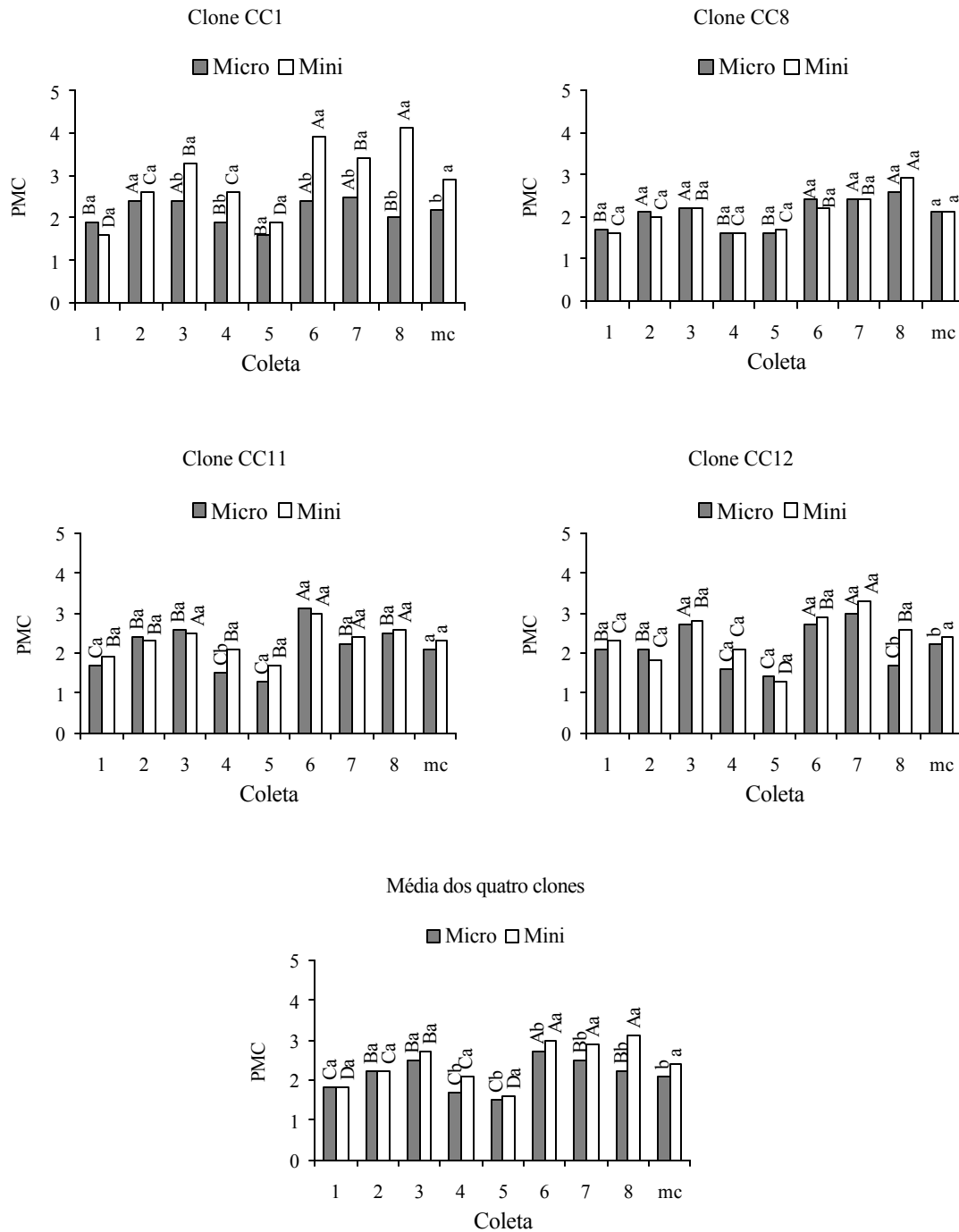


Figura 4 – Produção de microestacas (Micro) e miniestacas (Mini) por microcepa e minicepa por coleta (PMC), em função das coletas efetuadas nos jardins microclonal e miniclonal, dos quatro clones e média das oito coletas (mc). As médias seguidas de uma mesma letra maiúscula dentro de uma mesma técnica e entre coletas e as seguidas de uma letra minúscula dentro da mesma coleta e entre técnicas, respectivamente, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

os maiores valores encontrados no clone CC1 (2,9), seguido dos clones CC12, CC11 e CC8, cujas médias foram de 2,4; 2,3; e 2,1, respectivamente.

Os clones CC1 e CC12 apresentaram os maiores valores médios de produção das oito coletas na miniestaquia. Já nos clones CC8 e CC11, as médias das oito coletas não exibiram diferenças com relação ao comportamento de produção de microestacas e miniestacas.

Em observações realizadas com mudas micropropagadas, que foram transformadas em microcepas, notou-se que, após a decapitação do ápice, poucas brotações foram emitidas, havendo, aparentemente, persistência da dominância apical. Em podas ou coletas sucessivas, de acordo com o manejo empregado nas microcepas, é comum o aumento do número de brotações emitidas, com tendência à perda da dominância apical.

Dessa forma, clones com maior grau de juvenilidade teriam maior potencial de dominância apical, como seria o caso das microcepas, em que o manejo de condução de brotações deve ser mais eficiente, para garantir a maior produção de microestacas.

4.1.4. Vigor das microcepas e minicepas

No Quadro 2 são apresentados os resultados referentes ao vigor das microcepas e minicepas, avaliado pela contagem e classificação das brotações emitidas por ordem de tamanho, em três classes distintas, durante as medições realizadas aos 3, 6, 9, 15 e 20 dias.

Na primeira medição realizada, aos três dias após a limpeza das cepas, o número médio de brotações emitidas por micro/minicepa, nos quatro clones, foi de 2,8 na microestaquia e 1,7 na miniestaquia. Em todos os clones utilizados, essas brotações foram enquadradas na classe 1 (0,5 a 2,0 cm). Os clones que apresentaram maiores números de brotações foram o CC1 e o CC11, sendo os

maiores valores obtidos na microestaquia. Os clones CC8 e CC12 exibiram valores muito próximos ou coincidentes pelas duas técnicas.

Quadro 2 – Número de brotações emitidas por microcepas e minicepas, distribuídas em três classes de tamanho (1, 2 e 3), avaliadas aos 3, 6, 9, 15 e 20 dias, nos quatro clones em estudo

Clone	Tempo (dias)	Classes						Total	
		1		2		3		> 0,5 cm	
		(0,5 – 2,0 cm)		(2,1 – 4,0 cm)		> 4,0 cm		Micro	Mini
		Micro	Mini	Micro	Mini	Micro	Mini	Micro	Mini
CC 1	3	3,5	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	3,5	1,8
	6	4,1	4,6	0,1	0,3	0,0	0,0	4,3	4,9
	9	5,8	7,6	1,3	1,6	0,0	0,3	7,0	9,5
	15	3,1	4,0	2,6	2,0	4,4	5,8	10,1	11,8
	20	3,3	5,1	1,1	0,8	6,0	7,1	10,4	13,0
CC 8	3	1,6	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	1,6	1,3
	6	3,4	4,6	0,0	0,0	0,0	0,0	3,4	4,6
	9	7,3	7,6	0,3	0,8	0,0	0,0	7,6	8,4
	15	3,8	5,6	2,8	2,5	4,3	2,5	10,9	10,6
	20	3,9	3,9	2,8	2,8	5,9	4,5	12,6	11,2
CC 11	3	4,6	2,3	0,0	0,0	0,0	0,0	4,6	2,3
	6	7,0	6,3	1,0	0,0	0,0	0,0	8,0	6,3
	9	5,0	4,4	3,5	3,1	0,5	0,3	9,0	7,8
	15	3,0	3,0	3,1	1,5	7,8	6,5	13,9	11,0
	20	3,0	3,1	2,5	1,0	8,4	7,4	13,9	11,5
CC 12	3	1,4	1,4	0,0	0,0	0,0	0,0	1,4	1,4
	6	3,6	2,6	0,0	0,0	0,0	0,0	3,6	2,6
	9	3,4	3,9	1,3	1,3	0,1	0,1	4,8	5,3
	15	3,3	4,0	3,1	4,5	4,1	4,3	10,5	12,8
	20	2,9	*	2,6	*	6,1	*	11,6	*
Médias	3	2,8	1,7	0,0	0,0	0,0	0,0	2,8	1,7
	6	4,5	4,5	0,3	0,1	0,0	0,0	4,8	4,6
	9	5,4	5,9	1,6	1,7	0,2	0,2	7,1	7,8
	15	3,3	4,2	2,9	2,6	5,1	4,8	11,4	11,5
	20	3,3	4,0	2,3	1,5	6,6	6,3	12,1	11,9

* Dado não coletado.

Na medição realizada aos seis dias, os clones CC8 e CC12 apresentaram brotações de tamanhos inferiores a 2,0 cm. O clone CC1 teve brotações medindo entre 2,0 e 4,0 cm (classe 2) em ambas as técnicas e o CC 11, brotações acima de 2,0 cm, encontradas apenas na microestaquia. Os clones CC1 e CC11 mantiveram os maiores valores. No entanto, no CC1 o maior valor foi obtido na miniestaquia. No clone CC8, a miniestaquia foi superior, enquanto no CC12 o melhor resultado foi obtido na microestaquia. Nos quatro clones, a média obtida foi de 4,8 e 4,6 brotações/cepa, respectivamente na microestaquia e miniestaquia.

Aos nove dias, a média geral na miniestaquia foi de 7,8 brotações/cepa e na microestaquia, de 7,1. Todos os clones apresentaram brotações dentro das classes 1 e 2. Os clones CC11 e CC12 exibiram também brotações que se enquadravam na classe 3, nas duas técnicas. No entanto, o maior número de brotações foi obtido dentro da classe 1. No CC1, brotações acima de 4,0 cm foram observadas apenas na miniestaquia. O clone CC11 foi o único que apresentou maiores valores na microestaquia.

Na medição realizada aos 15 dias, observou-se certo equilíbrio do número de brotações nas três classes, com a ressalva de que nos clones CC1 e CC11 a classe 3 passou a apresentar os maiores valores. A média geral foi praticamente igual nas duas técnicas, sendo 11,4 na microestaquia e 11,5 na miniestaquia. Os clones CC11 e CC8 apresentaram valores totais superiores na microestaquia e os clones CC1 e CC12, na miniestaquia.

A última medição foi realizada aos 20 dias, devido à observação de que várias brotações pertencentes à classe 3 já se enquadravam no padrão de coleta utilizado na microestaquia e miniestaquia. Esse intervalo requerido para formação e coleta das microestacas e miniestacas foi superior a oito dias, visto a coleta utilizada no experimento ter sido seletiva, visando à sustentabilidade da produção. No presente estudo, as cepas tiveram todas as brotações retiradas, com o objetivo de verificar o potencial de emissão de novas brotações.

A média geral da última medição foi de 12,1 na microestaquia e 11,9 na miniestaquia. Observou-se que a classe 3 apresentou, em termos gerais, os maiores valores, seguida da classe 1. A classe 2 foi a que exibiu o menor número

de brotações, possivelmente devido à dominância apical das brotações maiores, que inibem o desenvolvimento e a mudança de classe das brotações inferiores a 2 cm.

O clone CC1 apresentou os maiores valores totais na miniestaquia, já nos clones CC8 e CC12 os valores apresentados pela microestaquia foram superiores. Considerando apenas a classe 3, verificou-se semelhante comportamento.

De forma geral, o número de brotações emitidas pelas microcepas e minicepas, em relação aos diferentes tempos de mensuração e clones, não apresentou respostas diferenciadas, indicando que as microcepas e minicepas têm potencial semelhante para emissão de brotações.

Após a medição aos 20 dias, todas as brotações foram coletadas para determinação do peso de matéria seca. Na Figura 5, observa-se que apenas o clone CC1 apresentou diferença estatística entre as técnicas mencionadas, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Entretanto, na média dos clones, os valores obtidos nas microestacas e miniestacas foram semelhantes, concordando com os resultados obtidos na produção de microestacas e miniestacas (item 4.1.3).

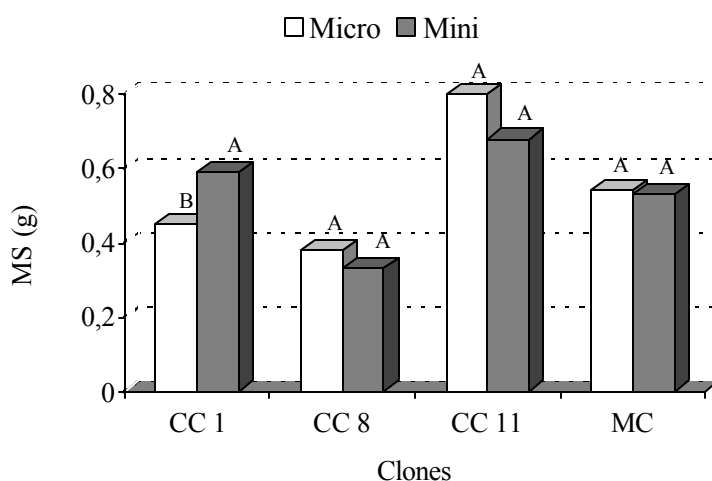


Figura 5 – Peso de matéria seca (MS) das brotações produzidas pelas microcepas e minicepas coletadas no final de 20 dias, com relação aos clones CC1, CC8 e CC11, e média dos clones (MC). Médias seguidas de uma mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em termos gerais, quanto a produção, vigor e sobrevivência, as microcepas e minicepas apresentaram resultados semelhantes. Tais resultados evidenciam que, dentro das condições de manejo adotadas e nos clones em estudo, as técnicas de microestaquia e miniestaquia podem ser consideradas eficientes na produção de propágulos visando à propagação clonal.

Quanto aos efeitos de rejuvenescimento *in vitro*, pode-se inferir que o número de subcultivos realizados não levou a diferenças significativas no comportamento das características de sobrevivência, produção e vigor das microcepas em relação às minicepas. Em parte, esses resultados são decorrentes do material genético (clones) utilizado, bem como do grau de juvenilidade das microcepas e minicepas e das condições ambientais proporcionadas ao processo de propagação.

4.2. Sobrevivência, enraizamento e vigor das microestacas e miniestacas

4.2.1. Análise de variância

Os resultados da análise de variância das características de sobrevivência das microestacas e miniestacas na saída da casa de vegetação, do enraizamento das microestacas e miniestacas na saída da casa de sombra, da sobrevivência, altura e diâmetro do coleto das mudas aos 50 dias de idade e do peso de matéria seca de raiz aos 28 dias encontram-se no Quadro 3.

Observou-se efeito não-significativo, pelo teste F ($P > 0,05$), da interação clone x técnica x tratamento sobre todas as características analisadas.

Nas interações clone x técnica e clone x tratamento, observou-se efeito significativo, pelo teste F ($P < 0,05$), sobre algumas características avaliadas, indicando respostas diferenciadas dos clones em relação às técnicas e aos tratamentos adotados.

Quadro 3 – Resultados da análise de variância das características de sobrevivência das microestacas e miniestacas na saída da casa de vegetação (SOBSCV); do enraizamento das microestacas e miniestacas na saída da casa de sombra (ENRSCS); da sobrevivência (SOB50), altura (ALT50) e diâmetro do coleto (DC50) das mudas aos 50 dias de idade; e do peso de matéria seca de raiz (PMS) das microestacas e miniestacas aos 28 dias de idade, avaliados em dois tempos de permanência em casa de vegetação, dos quatro clones em estudo

FV	GL	Quadrados Médios					
		SOBSCV ¹ (%)	ENRSCS ¹ (%)	SOB50 ¹ (%)	ALT50 (cm)	DC50 (mm)	PMS (mg)
Clone (Clo)	3	0,3513**	0,6255**	0,7249**	184,05**	0,4038**	3041,0**
Técnica (Tec)	1	0,1174*	0,2387**	0,3817**	17,70*	0,7905**	551,04*
Tempo (Tem)	1	0,0009 ^{ns}	0,0038 ^{ns}	0,0416 ^{ns}	76,87**	0,6035**	1204,2**
Clo * Tec	3	0,0169 ^{ns}	0,1043**	0,1389**	11,78*	0,1120**	205,9 ^{ns}
Clo * Tem	3	0,0295 ^{ns}	0,0124 ^{ns}	0,0216 ^{ns}	29,77**	0,1020*	478,47*
Tec * Tem	1	0,0004 ^{ns}	0,0008 ^{ns}	0,0085 ^{ns}	0,1237 ^{ns}	0,0079 ^{ns}	126,04 ^{ns}
Clo * Tec * Tem	3	0,0163 ^{ns}	0,0139 ^{ns}	0,0104 ^{ns}	2,12 ^{ns}	0,0015 ^{ns}	151,74 ^{ns}
Resíduo	80	0,0184	0,0225	0,0215	4,3976	0,0335	123,75
Média Geral	-	95,05	90,95	89,58	15,14	1,97	41,86
CV _{exp} (%)	-	9,54	11,22	11,13	13,85	9,31	26,57

* e ** = significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

ns = não-significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

(1) dados transformados em arco-seno $\sqrt{x/100}$, em virtude de não apresentarem normalidade pelo teste de Lilliefors.

Quanto aos coeficientes de variação experimental encontrados, estes variaram de 9,54 até 26,57%, evidenciando boa precisão experimental em relação às características estudadas, de acordo com os valores normalmente encontrados na literatura (RIBEIRO, 1988; FERREIRA, 1994; SCHMIDT, 1995; WENDLING et al., 2000a).

4.2.2. Sobrevivência na saída da casa de vegetação

Na Figura 6 são apresentados os resultados relativos à sobrevivência das microestacas e miniestacas na saída da casa de vegetação, conforme os tratamentos utilizados. À exceção do tratamento de 28 dias de permanência em casa de vegetação do clone CC11, não se observou diferença estatística entre os demais clones, as técnicas e os tratamentos.

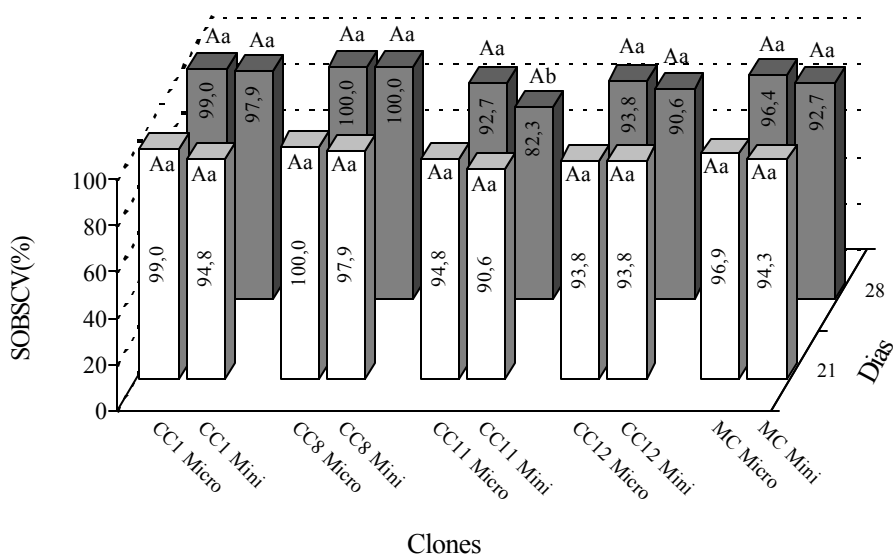


Figura 6 – Sobrevivência das microestacas e miniestacas na saída da casa de vegetação (SOBSCV), em função dos dois tempos de permanência em casa de vegetação (21 e 28 dias), dos quatro clones em estudo e média dos clones (MC). As médias seguidas de uma mesma letra maiúscula dentro de uma mesma técnica e entre tratamentos e as seguidas de uma letra minúscula dentro do mesmo tratamento e entre técnicas, respectivamente, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Analisando os tratamentos, notou-se que, com relação às duas técnicas, não houve diferença estatística entre o tempo de permanência de 21 e 28 dias em casa de vegetação. Conforme XAVIER e COMÉRIO (1996), o tempo de

permanência das microestacas em casa de vegetação pode variar de 10 a 30 dias, podendo o início do processo de enraizamento ocorrer entre o 7^o e o 20^o dia, após o estaqueamento (ASSIS et al., 1992).

Os clones CC1 e CC8 foram os que apresentaram maiores percentuais de sobrevivência na saída da casa de vegetação, seguidos dos clones CC12 e CC11. À exceção do clone CC11, no tratamento de 28 dias, dentro da técnica da miniestaquia, que apresentou 82,3% de sobrevivência, todos os clones, dentro das técnicas e dos tratamentos estudados, exibiram resultados superiores a 90% de sobrevivência. Esses resultados, em termos gerais, foram mais uniformes e superiores aos obtidos por WENDLING (2000a).

Segundo IRITANI e SOARES (1983), a sobrevivência na saída da casa de vegetação, embora não seja garantia de sucesso no enraizamento das estacas, é de extrema importância, uma vez que pode indicar a necessidade de controle das condições ambientais (umidade e temperatura) na casa de vegetação.

Um dos fatores que provavelmente contribuíram para os altos índices de sobrevivência na saída da casa de vegetação foi que, durante a condução do experimento, as condições de temperatura e umidade dentro do ambiente de casa de vegetação foram adequadas, isso aliado ao alto vigor vegetativo das miniestacas e microestacas decorrente do sistema de manejo adotado e da propensão dos clones estudados à propagação vegetativa.

4.2.3. Enraizamento na saída da casa de sombra

Os resultados do enraizamento das microestacas e miniestacas na saída da casa de sombra são apresentados na Figura 7. Com exceção do clone CC8, os demais clones tiveram decréscimos nos percentuais, em comparação com os da sobrevivência na saída da casa de vegetação (Figura 6).

O enraizamento na saída da casa de sombra é mais confiável em relação à sobrevivência na saída da casa de vegetação, visto que muitas microestacas e

miniestacas com sinais de sobrevivência na saída da casa de vegetação podem não apresentar raízes formadas e, ou, degenerar após alguns dias de permanência na casa de sombra, onde as mudanças nas condições climáticas são mais drásticas. Durante o tempo de permanência na casa de sombra, a mortalidade foi observada somente naquelas microestacas ou miniestacas que não apresentavam sistema radicular desenvolvido ou muito pouco desenvolvido na saída da casa de vegetação, não sendo observado mortalidade causada por outros fatores.

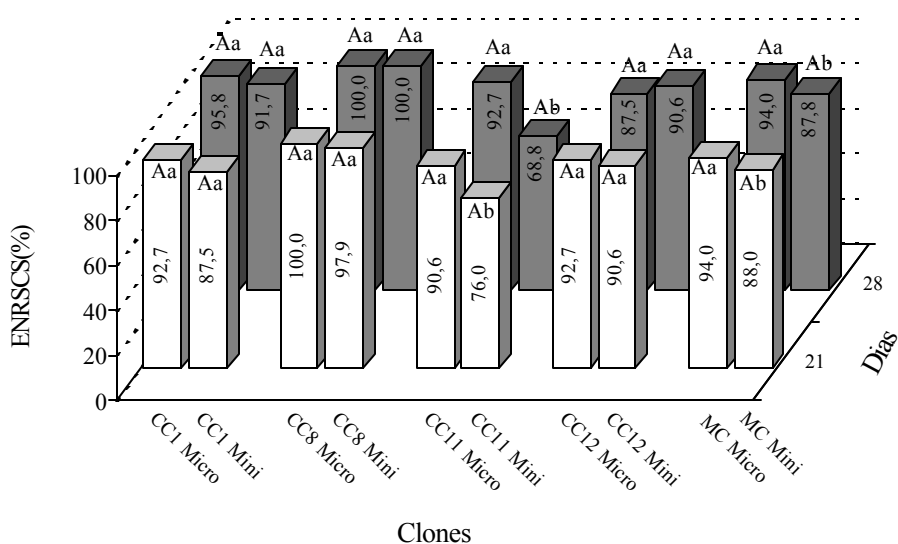


Figura 7 – Enraizamento das microestacas e miniestacas na saída da casa de sombra (ENRSCS), em função dos dois tempos de permanência em casa de vegetação (21 e 28 dias), dos quatro clones em estudo e média dos clones (MC). As médias seguidas de uma mesma letra maiúscula dentro de uma mesma técnica e entre tratamentos e as seguidas de uma letra minúscula dentro do mesmo tratamento e entre técnicas, respectivamente, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

À semelhança dos resultados obtidos na sobrevivência na saída da casa de vegetação, somente o clone CC11 apresentou diferença estatística entre as técnicas utilizadas, sendo esta observada nos dois tratamentos (21 e 28 dias).

Entre os tratamentos (21 e 28 dias), não se verificou diferença estatística, indicando que, para os clones em estudo, o tempo de permanência de 21 dias é suficiente para o enraizamento de microestacas e miniestacas.

Com exceção do clone CC11 dentro da miniestaquia, todos os percentuais de enraizamento obtidos foram superiores a 87,5%. O clone CC8 foi o que apresentou os melhores resultados, seguido dos clones CC1 e CC12.

Os percentuais de enraizamento observados no clone CC11, na miniestaquia, foram bastante inferiores quando comparados com os demais clones. No entanto, com a utilização da microestaquia, houve aumentos de 19,2 e 34,7% dos índices em detrimento do uso da miniestaquia, respectivamente nos tratamentos de 21 e de 28 dias de permanência em casa de vegetação.

O enraizamento constitui a característica mais amplamente apresentada como resultado de rejuvenescimento pela propagação vegetativa. No clone CC11, o maior enraizamento das microestacas em relação às miniestacas pode estar associado a um possível rejuvenescimento das mudas produzidas pela micropropagação (GEORGE, 1993; HARTMANN et al., 1997), evidenciando um efeito positivo da microestaquia.

De acordo com os resultados obtidos, pode-se inferir que clones com maior dificuldade de enraizamento apresentam maior resposta em relação ao uso da microestaquia, resultando em aumento nos índices de enraizamento. No caso de clones de fácil enraizamento, não se observou efeito acentuado do uso da microestaquia em relação ao da miniestaquia. No presente caso, em relação à média dos quatro clones, os percentuais de enraizamento obtidos foram de 94% na microestaquia e de 88% na miniestaquia, indicando a maior eficiência da microestaquia em relação à miniestaquia.

4.2.4. Sobrevivência, altura e diâmetro do coleto das mudas aos 50 dias de idade

De acordo com a Figura 8, observa-se que não houve diferenças significativas nos tratamentos utilizados, dentro de cada técnica, na sobrevivência

das mudas aos 50 dias de idade, indicando que os dois tempos de permanência em casa de vegetação não influenciaram a resposta desta característica.

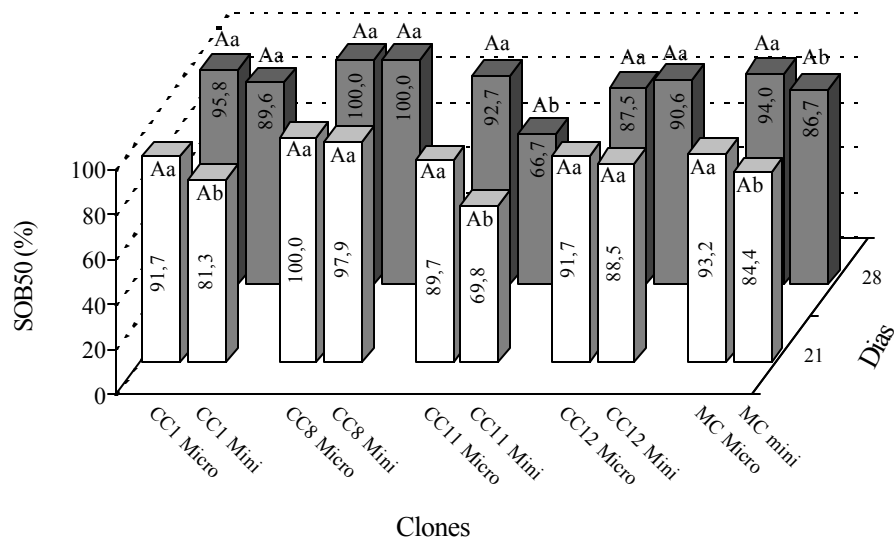


Figura 8 – Sobrevivência das mudas aos 50 dias de idade (SOB50), em função dos dois tempos de permanência em casa de vegetação (21 e 28 dias), dos quatro clones em estudo e média dos clones (MC). As médias seguidas de uma mesma letra maiúscula dentro de uma mesma técnica e entre tratamentos e as seguidas de uma letra minúscula dentro do mesmo tratamento e entre técnicas, respectivamente, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Entre as técnicas, houve diferença significativa no clone CC1 no tratamento de 21 dias de permanência em casa de vegetação e no clone CC11 nos dois tratamentos, sendo a microestaquia a técnica que apresentou os melhores resultados.

Em geral, observou-se, com relação à sobrevivência das mudas aos 50 dias, comportamento dos clones semelhante ao do enraizamento na saída da casa de sombra. O clone CC8 permaneceu apresentando os melhores resultados e o CC11, dentro da miniestaquia, os valores mais baixos. Quanto ao clone CC1, no entanto, dentro da miniestaquia, houve redução mais pronunciada no tempo de 21 dias de permanência em casa de vegetação.

Considerando a média dos quatro clones em estudo, a percentagem de sobrevivência das mudas aos 50 dias, nos dois tratamentos, foi superior a 93,2% na microestaquia e 84,4% na miniestaquia, confirmando a maior eficiência da microestaquia em relação à miniestaquia, principalmente quando o clone apresenta dificuldade no enraizamento.

As médias da altura das mudas aos 50 dias de idade nos quatro clones em estudo, em função dos tratamentos de 21 e 28 dias de permanência em casa de vegetação, respectivamente na microestaquia e miniestaquia, são apresentadas na Figura 9. Observa-se, nessa figura, que existe variação de resultados dos clones em relação aos tratamentos e às técnicas utilizadas. No entanto, somente os valores obtidos pelo clone CC8 entre tratamentos e pelo CC11 entre técnicas apresentaram diferença estatística.

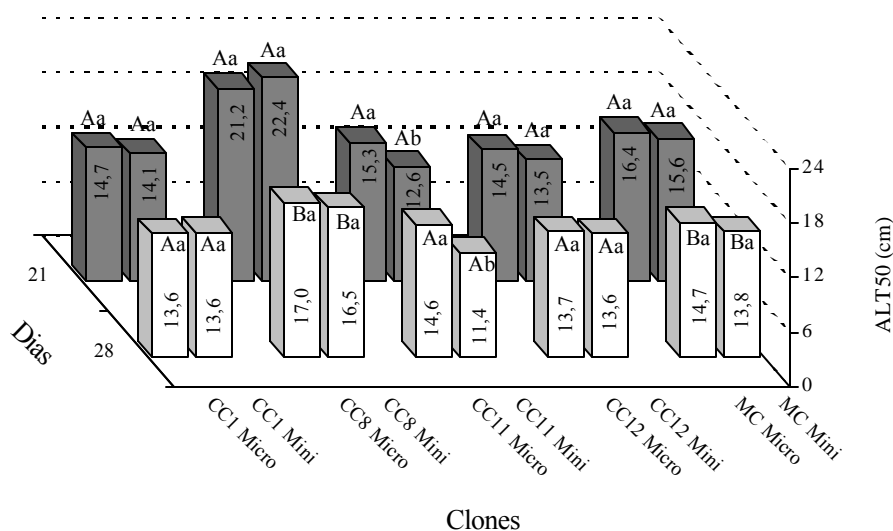


Figura 9 – Altura das mudas aos 50 dias de idade (ALT50), em função dos dois tempos de permanência em casa de vegetação (21 e 28 dias), dos quatro clones em estudo e média dos clones (MC). As médias seguidas de uma mesma letra maiúscula dentro de uma mesma técnica e entre tratamentos e as seguidas de uma letra minúscula dentro do mesmo tratamento e entre técnicas, respectivamente, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

De maneira geral, considerando-se os tratamentos utilizados, as maiores médias foram obtidas no tratamento de 21 dias de permanência em casa de vegetação. Visto que a avaliação foi realizada aos 50 dias de idade, neste tratamento as mudas permaneceram maior tempo em área a pleno sol, em comparação com o tratamento de 28 dias em casa de vegetação, justificando tal resultado.

Ao comparar os resultados de enraizamento das microestacas e miniestacas na saída da casa de sombra e de sobrevivência das mudas aos 50 dias, pode-se sugerir, com relação aos clones utilizados, que, se o objetivo é obter mudas com maiores alturas em menor tempo, seria mais interessante utilizar menor tempo de permanência em casa de vegetação, considerando que o clone seja de fácil enraizamento, como, no presente caso, o clone CC8.

Em clones que apresentam maiores dificuldades de enraizamento, o aumento do tempo de permanência em casa de vegetação pode levar à obtenção de maiores índices de enraizamento. No entanto, haverá atraso no desenvolvimento da muda, que necessitará de tempo maior de permanência em área a pleno sol para que complete seu desenvolvimento antes de ser levada ao campo.

As mudas produzidas pela microestaquia atingiram alturas iguais ou superiores às produzidas pela miniestaquia. No clone CC11, ao se utilizar a microestaquia houve acréscimos de 21,4 e 28,1%, respectivamente nos tratamentos de 21 e de 28 dias em casa de vegetação, na altura média das mudas, em relação à utilização da miniestaquia. Esse acréscimo pode estar associado a um possível rejuvenescimento do clone CC11, visto que estacas originadas de partes juvenis da planta possuem maior vigor (GEORGE, 1993; GREENWOOD e HUTCHISON, 1993).

Quanto ao diâmetro do coleto das mudas aos 50 dias de idade, através da Figura 10 se percebe que ocorreram diferenças estatísticas entre os tratamentos, com as duas técnicas no clone CC8 e, entre as técnicas, no clone CC1, no tratamento de 28 dias; no clone CC11, tais diferenças ocorreram nos dois tratamentos. No clone CC12 não houve diferença estatística entre as técnicas,

bem como entre os tratamentos, sendo os valores obtidos iguais nas duas técnicas e nos dois tratamentos, corroborando os resultados obtidos na avaliação da característica de crescimento em altura, apresentada anteriormente.

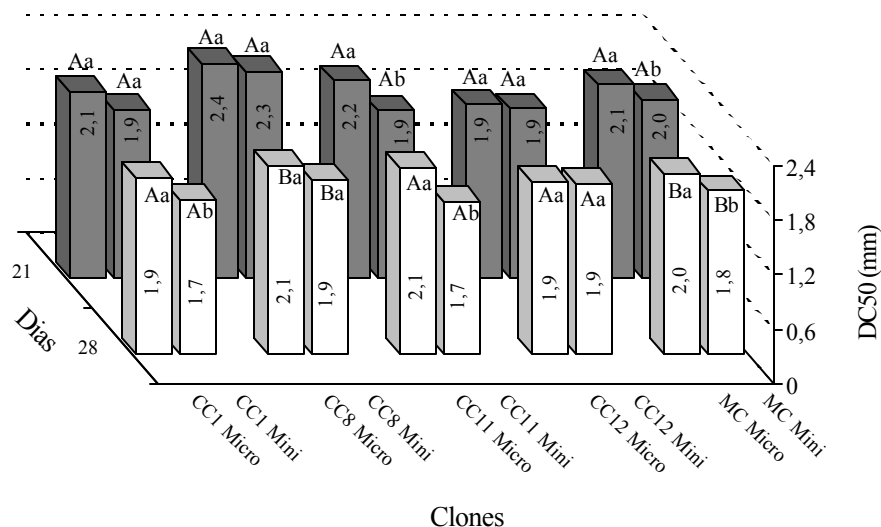


Figura 10 – Diâmetro do coleto das mudas aos 50 dias de idade (DC50), em função dos dois tempos de permanência em casa de vegetação (21 e 28 dias), dos quatro clones em estudo e média dos clones (MC). As médias seguidas de uma mesma letra maiúscula dentro de uma mesma técnica e entre tratamentos e as seguidas de uma letra minúscula dentro do mesmo tratamento e entre técnicas, respectivamente, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Nos clones CC1, CC8 e CC11, os maiores diâmetros foram obtidos no tratamento de 21 dias, e, dentro de cada tratamento, a microestaquia foi a técnica que apresentou os maiores valores, sendo essa diferença mais expressiva no clone CC11.

Com exceção dos clones CC1 e CC11 no tratamento de 21 dias, na miniestaquia, todos os clones, dentro das técnicas e dos tratamentos, apresentaram diâmetro do coleto igual ou superior a 1,9 mm.

Foi observado, de modo geral, que os valores de altura e diâmetro do coleto das mudas, com exceção do clone CC8, estavam um pouco abaixo do padrão considerado ideal para plantio definitivo no campo (CARNEIRO, 1995). No entanto, cabe salientar que essas características foram avaliadas aos 50 dias de idade das mudas.

De maneira geral, os resultados quanto ao crescimento em diâmetro do coleto indicaram semelhança aos obtidos de altura, em que as mudas de microestacas apresentaram valores iguais ou superiores aos da miniestaquia, principalmente com relação aos clones com maior dificuldade de enraizamento.

4.2.5. Matéria seca de raízes das microestacas e miniestacas aos 28 dias

Na Figura 11 são apresentados os resultados da matéria seca de raízes das microestacas e miniestacas aos 28 dias após o estaqueamento. Considerando-se os tratamentos utilizados, no caso do tratamento de 21 dias, a avaliação foi realizada na saída da casa de sombra e, no tratamento de 28 dias, coincidiu com a saídas das microestacas e miniestacas da casa de vegetação.

Apesar da variação nos resultados obtidos, diferença significativa foi observada somente no clone CC1 entre os tratamentos na microestaquia e, no clone CC11, entre as técnicas no tratamento de 28 dias.

Os clones CC12 e CC8 apresentaram os maiores pesos de matéria seca, sendo estes obtidos no tratamento de 28 dias de permanência em casa de vegetação, no primeiro caso, e de 21 dias no segundo.

Considerando-se os tratamentos utilizados, a permanência de 28 dias na casa de vegetação foi o tratamento que apresentou maiores pesos de matéria seca de raiz. Isso pode ser devido não somente ao fato de que, em tempo maior de permanência em condições ambientais de casa de vegetação, o desenvolvimento do sistema radicular é favorecido, mas também ao fato de que, durante a

permanência na casa de sombra, as microestacas e miniestacas apresentam poda natural das raízes que ficam expostas na base do tubete.

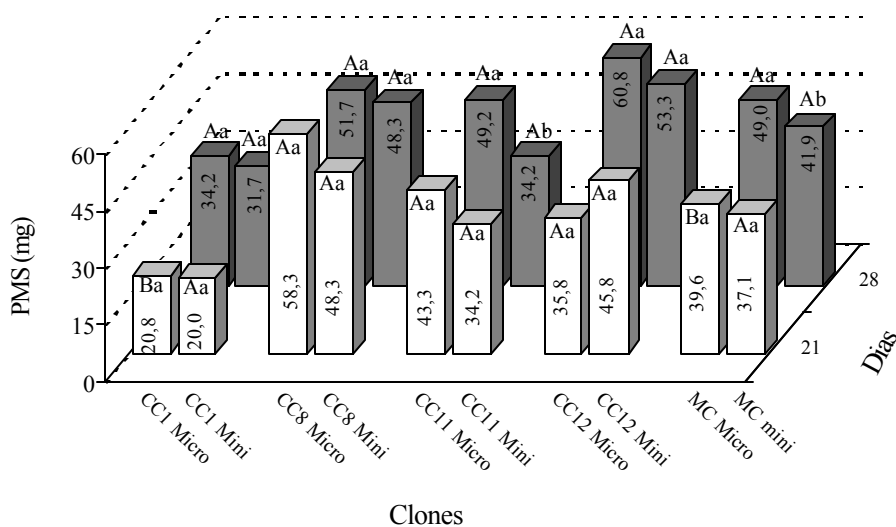


Figura 11 – Peso de matéria seca de raízes das microestacas e miniestacas aos 28 dias (PMS), em função dos dois tempos de permanência em casa de vegetação (21 e 28 dias), dos quatro clones estudados e média dos clones (MC). As médias seguidas de uma mesma letra maiúscula dentro de uma mesma técnica e entre tratamentos e as seguidas de uma letra minúscula dentro do mesmo tratamento e entre técnicas, respectivamente, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em geral, observaram-se maiores pesos de matéria seca de raiz na microestaquia, reforçando a suposição do maior grau de juvenilidade das microestacas (BOLLIANI, 1986; GREENWOOD e HUTCHISON, 1993; GEORGE, 1993).

Espera-se que propágulos com maior grau de juvenilidade apresentem maior vigor, o que resultaria em maior peso de matéria seca num processo de enraizamento. Dessa forma, a utilização da microestaquia em relação à miniestaquia na produção de mudas, principalmente de clones com maior

dificuldade de enraizamento, representaria aumentos significativos em termos de matéria seca de raiz.

4.3. Vigor de enraizamento das microestacas e miniestacas

No Quadro 4, encontram-se os resultados relativos a número de raízes, comprimento total de raízes, comprimento da maior raiz e comprimento médio das raízes das microestacas e miniestacas, as quais foram avaliadas aos 10, 14, 17, 21, 24 e 28 dias após o estaqueamento.

Na avaliação realizada aos 10 dias, os quatro clones já apresentavam raízes visíveis ou pontos de iniciação de raiz. Os números médios de raízes/planta foram 2,21 (microestaquia) e 1,31 (miniestaquia). O comprimento total de raízes/planta foi de 1,11 e 0,52 cm e o comprimento médio/raiz, de 0,30 e 0,19 cm, na microestaquia e miniestaquia, respectivamente. O comprimento da maior raiz/planta foi de 0,45 cm na microestaquia e 0,28 cm na miniestaquia. Os maiores valores foram obtidos na microestaquia, exceto no clone CC1, em que a miniestaquia apresentou melhores resultados.

O número médio de raízes por clone não aumentou progressivamente com as avaliações realizadas, sendo observado acréscimo desses valores até a avaliação aos 17 dias. Posteriormente, ocorreu estabilização, que variou entre 2,42 e 6,42 raízes/planta na microestaquia e entre 1,92 e 4,67 na miniestaquia, respectivamente. Os menores números foram obtidos nos clones CC1 e CC11.

No comprimento total de raízes, o aumento foi progressivo no decorrer das avaliações. O clone que apresentou maiores valores foi o CC8, seguido do clone CC12, cujos valores foram bastante próximos entre si. Já nos clones CC1 e CC11, o comprimento total de raízes/planta foi muito inferior, em comparação com os dois primeiros.

Com relação ao comprimento da maior raiz aos 28 dias, os clones CC1, CC8 e CC12 apresentaram valores bastante semelhantes e bem próximos da média geral. No caso do CC11, esses valores foram de 15,92 e 4,71 cm, na

Quadro 4 – Número de raízes (NR), comprimento total (CT), comprimento da maior raiz (CMR) e comprimento médio (CM) de raízes das microestacas e miniestacas, avaliadas aos 10, 14, 17, 21, 24 e 28 dias após o estaqueamento, dos clones de *Eucalyptus grandis*

Clone	Tempo (Dias)	NR		CT (cm)		CMR (cm)		CM (cm)	
		Micro	Mini	Micro	Mini	Micro	Mini	Micro	Mini
CC 1	10	0,67	0,67	0,09	0,20	0,06	0,12	0,06	0,08
	14	2,67	2,45	7,25	3,90	3,63	2,10	2,36	1,30
	17	3,67	2,92	19,28	15,77	7,46	7,78	5,42	5,45
	21	3,33	1,92	36,38	25,13	14,79	15,42	10,53	13,40
	24	3,17	2,25	39,63	27,00	17,79	15,79	13,84	12,78
	28	2,42	3,08	37,71	41,96	21,08	21,00	16,95	14,31
CC 8	10	4,00	2,83	2,85	1,43	1,07	0,69	0,69	0,48
	14	3,75	3,50	11,72	12,16	4,27	4,37	3,23	3,40
	17	4,08	4,08	22,17	22,08	8,54	7,33	5,82	5,45
	21	3,17	3,08	33,33	35,63	14,67	14,71	11,29	11,58
	24	4,58	3,75	55,92	47,04	17,96	16,83	12,84	12,57
	28	5,17	4,17	68,83	53,88	19,25	18,63	13,46	12,99
CC 11	10	1,58	0,50	0,60	0,13	0,26	0,12	0,19	0,08
	14	3,42	1,50	3,80	1,68	1,75	1,08	1,32	0,99
	17	2,75	2,00	7,98	2,62	4,38	1,37	2,98	1,16
	21	2,75	2,25	18,08	7,81	9,79	5,13	6,99	3,61
	24	3,33	2,42	19,18	10,69	11,38	6,75	6,96	4,69
	28	2,67	2,08	27,58	22,04	15,92	14,71	13,60	12,13
CC 12	10	2,58	1,25	0,88	0,31	0,42	0,18	0,24	0,13
	14	6,08	3,42	11,74	5,46	3,64	2,31	1,94	1,51
	17	6,42	4,50	20,37	15,90	6,21	6,25	3,43	3,41
	21	3,50	4,58	33,79	40,17	14,67	14,92	9,60	9,74
	24	4,58	4,58	41,58	38,70	15,96	15,08	9,48	8,61
	28	4,08	4,67	55,29	53,96	20,33	18,04	14,15	12,18
Média	10	2,21	1,31	1,11	0,52	0,45	0,28	0,30	0,19
	14	3,98	2,72	8,63	5,80	3,32	2,47	2,21	1,80
	17	4,23	3,38	17,45	14,09	6,65	5,68	4,41	3,87
	21	3,19	2,96	30,40	27,19	13,48	12,55	9,60	9,58
	24	3,92	3,25	39,08	30,86	15,77	13,61	10,78	9,66
	28	3,59	3,50	47,35	42,96	19,15	18,10	14,11	12,90

microestaquia e miniestaquia, respectivamente, em comparação com os de 19,15 e 18,10 cm da média geral dos clones.

No que tange ao comprimento médio de raízes/planta, notou-se que nas primeiras avaliações os clones CC1 e CC11 apresentavam valores menores quando comparados com outros clones. No entanto, essas diferenças foram tornando-se menos evidentes nas avaliações posteriores, observando-se valores próximos ou até mesmo superiores aos dos demais clones, como é o caso do clone CC1, que foi o que apresentou o maior comprimento médio/raiz no final dos 28 dias.

Em termos gerais, no decorrer das avaliações realizadas, observou-se que os clones CC1 e CC11 apresentaram menor número de raízes/planta, refletindo em menor comprimento total de raízes/planta, em comparação com os clones CC8 e CC12, uma vez que não houve grande variação no comprimento da maior raiz e no comprimento médio de raiz/planta.

Observou-se, em cada clone, que a maioria dos valores obtidos foi superior na microestaquia, sendo na totalidade quando se tratava das médias dos quatro clones. Considerando os clones estudados, os resultados indicaram a maior habilidade de enraizamento das microestacas em relação às miniestacas, evidenciada através da velocidade de emissão de raízes, número de raízes/planta, comprimento total de raiz/planta, comprimento da maior raiz/planta e comprimento médio de raízes/planta, concordando com a literatura que aborda aspectos relacionados a juvenilidade e maturação (BONGA, 1982; HACKETT, 1987; GOMES, 1987; GEORGE, 1993; GREENWOOD e HUTCHISON, 1993; HARTMANN et al., 1997)

Esses resultados corroboram os obtidos no enraizamento das microestacas e miniestacas, apresentados no item 4.2, em que a microestaquia apresentou maior percentual de enraizamento em relação à miniestaquia. Tal diferença foi mais evidente no clone CC11, que pode ser considerado o clone com maior dificuldade de enraizamento pela técnica de miniestaquia, em comparação com os demais clones utilizados no presente estudo.

4.4. Correlações entre características

Observa-se, no Quadro 5, que a produção das miniestacas e microestacas por microcepas e minicepas não foi significativamente correlacionada com as características avaliadas, à exceção do peso de matéria seca de raiz aos 28 dias de idade.

Quadro 5 – Correlações de Pearson para produção de microestacas e miniestacas por microcepas e minicepas (PROD), sobrevivência das microestacas e miniestacas na saída da casa de vegetação (SOBSCV), enraizamento das microestacas e miniestacas na saída da casa de sombra (ENRSCS), sobrevivência (SOB50), altura (ALT50), diâmetro do coleto (DC50) das mudas aos 50 dias de idade e peso de matéria seca de raiz aos 28 dias de idade (PMS) dos quatro clones de *Eucalyptus* estudados

	SOBSCV	ENRSCS	SOB50	ALT50	DC50	PMS
PROD	0,02 ^{ns}	- 0,09 ^{ns}	- 0,14 ^{ns}	- 0,07 ^{ns}	- 0,07 ^{ns}	- 0,35**
SOBSCV		0,79**	0,75**	0,41**	0,25**	0,13 ^{ns}
ENRSCS			0,96**	0,62**	0,44**	0,30**
SOB50				0,62**	0,43**	0,35**
ALT50					0,80**	0,34**
DC50						0,26**

* e ** = significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente; ns = não-significativo.

Esses resultados, de modo geral, indicam que a produção de microestacas e miniestacas por microcepas e minicepas não influenciou o enraizamento e o crescimento das mudas. Vale salientar que, no presente estudo, as condições nutricionais e de manejo foram adequadas para produção de mudas através das duas técnicas. Assim, em condições adequadas de manejo dos jardins clonais, os clones com maior produção de estacas não necessariamente tenderão ao maior percentual de enraizamento e vice-versa.

Com relação às demais características, todas as correlações mostraram-se significativas, à exceção da correlação da sobrevivência na saída da casa de vegetação e do peso de matéria seca de raiz aos 28 dias (0,13).

A correlação do enraizamento na saída da casa de sombra e da sobrevivência das mudas aos 50 dias foi altamente significativa (0,96), sendo esse bem próximo do valor obtido por WENDLING (1999). Observaram-se, também, altas correlações entre a sobrevivência na saída da casa de vegetação e o enraizamento na saída da casa de sombra (0,79), bem como na sobrevivência das mudas aos 50 dias (0,75), indicando a confiabilidade da avaliação da sobrevivência em relação à obtenção da muda.

Quanto a altura e diâmetro do coleto aos 50 dias, observou-se alta correlação (0,80), estando de acordo com a literatura pertinente ao assunto (WENDLING, 1999; CARNEIRO, 1995).

As correlações entre a altura das plantas (ALT50) e a sobrevivência e enraizamento das microestacas e miniestacas (SOBSCV, ENRSCS e SOB50) indicam que propágulos com maior potencial de enraizamento conduzem à melhor performance de crescimento em altura. Esses resultados estão de acordo com afirmações de que propágulos mais juvenis possuem maior potencial de regeneração e, ou, vigor vegetativo, que traduzem em maior percentual de enraizamento e de crescimento (GEORGE, 1993; GREENWOOD e HUTCHISON, 1993).

4.5. Efeito da aplicação de AIB no enraizamento de microestacas e miniestacas

Os resultados da análise de variância referentes às características de sobrevivência das microestacas e miniestacas na saída da casa de vegetação, enraizamento das microestacas e miniestacas na saída da casa de sombra, sobrevivência, altura e diâmetro do coleto das mudas aos 50 dias, em função das

quatro dosagens do regulador de crescimento AIB (0, 1000, 2000 e 4000 mg Γ^{-1}), encontram-se no Quadro 6.

Quadro 6 - Resultados da análise de variância referentes à sobrevivência das microestacas e miniestacas na saída da casa de vegetação (SOBSCV), enraizamento das microestacas e miniestacas na saída da casa de sombra (ENRSCS), sobrevivência (SOB50), altura (ALT50) e diâmetro do coleto (DC50) das mudas aos 50 dias de idade, com a aplicação de AIB, dos quatro clones em estudo

FV	GL	Quadrados Médios				
		SOBSCV ¹ (%)	ENRSCS ¹ (%)	SOB50 ¹ (%)	ALT50 (cm)	DC50 (mm)
Clone (Clo)	3	0,3084**	0,8342**	1,1056**	1059,14**	6,7057**
Técnica (Tec)	1	0,1980**	0,5244**	1,9362**	165,56**	7,0022**
Dosagem (Dos)	3	0,3484**	0,6463**	00,3806**	4,6646 ^{ns}	0,4514 ^{ns}
Dos * Tec	3	0,0738**	0,1131*	0,1129 ^{ns}	3,5946 ^{ns}	1,3050 ^{ns}
Dos * Clo	9	0,1577**	0,2455**	0,2434**	3,2456 ^{ns}	0,9584 ^{ns}
Clo * Tec	3	0,0853**	0,1089*	0,0991 ^{ns}	17,472*	1,6036 ^{ns}
Dos * Clo * Tec	9	0,0223 ^{ns}	0,0178 ^{ns}	0,0343 ^{ns}	3,0148 ^{ns}	0,7369 ^{ns}
Resíduo	160	0,0188	0,0425	0,0564	4,8653	0,0335
Média Geral	-	96,29	91,04	85,81	13,31	2,00
CV _{exp} (%)	-	9,18	14,83	18,37	16,57	45,96

* e ** = significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

ns = não-significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

(1) dados transformados em arco-seno $\sqrt{x/100}$, em virtude de não apresentarem normalidade pelo teste de Lilliefors.

Não houve diferença estatística ($P > 0,05$) na interação dosagem x clone x técnica, em todas as características estudadas. Com relação à maioria das características, observou-se efeito das interações dosagem x técnica, dosagem x clone e clone x técnica, indicando a existência de respostas diferenciadas de um tratamento sobre o outro quanto ao comportamento das características avaliadas, conforme significância ($P < 0,05$) pelo teste F.

À exceção do diâmetro do coleto das mudas aos 50 dias, os coeficientes de variação experimentais obtidos variaram de 9,18 a 18,37%. Esses valores são próximos aos encontrados na literatura para *Eucalyptus* (RIBEIRO, 1988; FERREIRA, 1994; SCHMIDT, 1995; WENDLING et al., 2000a; WENDLING et al., 2000b) e indicam boa precisão experimental, considerando-se a complexidade envolvida nas características avaliadas no presente estudo.

As respostas à aplicação de AIB quanto à sobrevivência das microestacas e miniestacas na saída da casa de vegetação, para os quatro clones, são apresentadas na Figura 12.

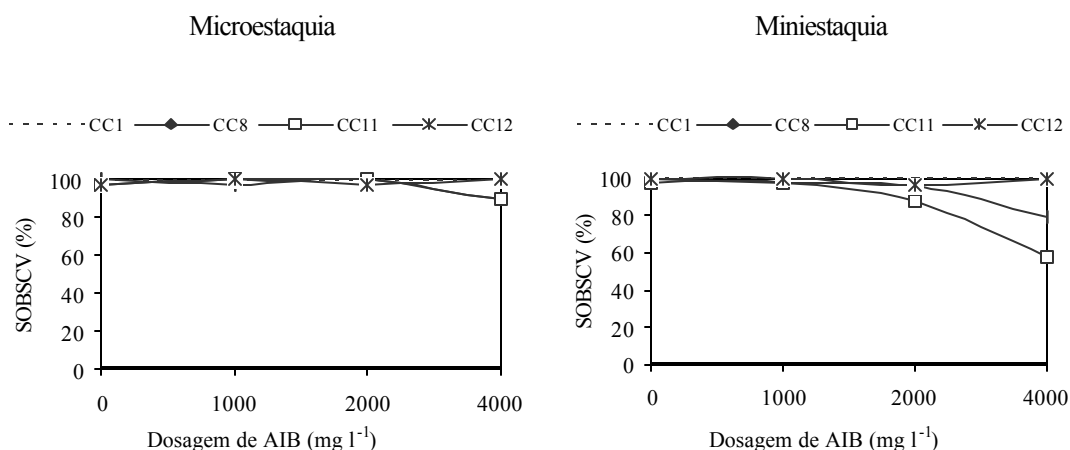


Figura 12 – Sobrevivência das microestacas e miniestacas na saída da casa de vegetação (SOBSCV), em resposta à aplicação de AIB (0, 1000, 2000 e 4000 mg l⁻¹), para os quatro clones estudados.

Notou-se, na microestaca, que a utilização do regulador de crescimento não influenciou a sobrevivência das microestacas, exceto dos clones CC8 e CC11, na dosagem de 4000 mg l⁻¹, em que se observou tendência de decréscimo dos percentuais em razão, provavelmente, de a concentração do regulador de crescimento utilizado apresentar níveis indesejáveis ao enraizamento.

Esses resultados estão de acordo com XAVIER e COMÉRIO (1996) e ASSIS et al. (1992), segundo os quais a utilização de regulador de crescimento não é recomendada para microestaca, podendo, às vezes, ter efeito negativo.

No caso da miniestaquia, para os clones CC1 e CC12, não foi observado variação de resposta no percentual de sobrevivência na saída da casa de vegetação em relação às dosagens de AIB utilizadas, apresentando comportamento semelhante ao da microestaquia. No entanto, nos clones CC8 e CC11, a aplicação de AIB proporcionou decréscimo nos percentuais a partir da dosagem de 2 mg l⁻¹.

Os resultados obtidos na miniestaquia, em relação à sobrevivência na saída da casa de vegetação, de certa forma, concordam com os obtidos por WENDLING et al. (2000b). Segundo esses autores, os melhores índices de sobrevivência foram obtidos com dosagens de AIB variando entre 1000 e 3000 mg l⁻¹.

O enraizamento das microestacas e das miniestacas na saída da casa de sombra está representado na Figura 13. Observou-se, no clone CC1, efeito positivo da aplicação de AIB no enraizamento das microestacas e miniestacas, com maiores valores entre as dosagens de 1000 e 2000 mg l⁻¹, bem como ligeiro decréscimo na dosagem de 4000 mg l⁻¹. Os percentuais obtidos foram muito próximos nas mesmas dosagens e nas duas técnicas.

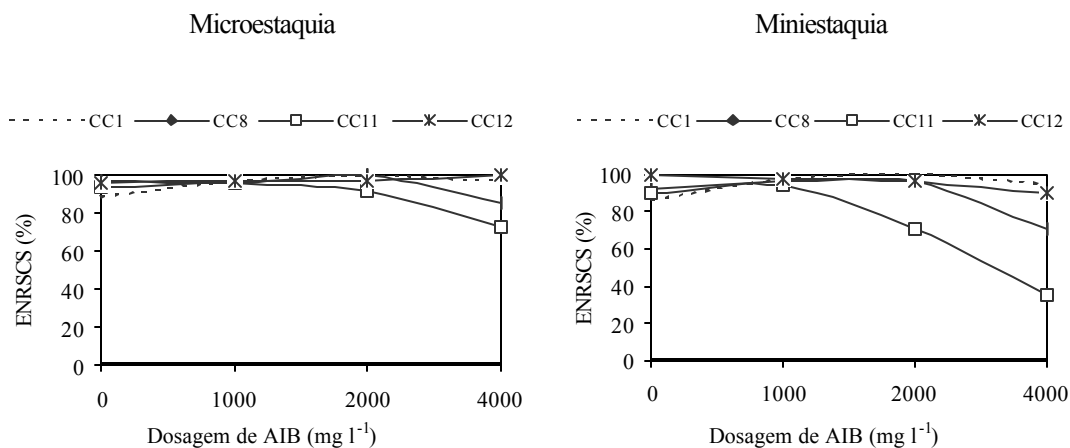


Figura 13 – Enraizamento das microestacas e miniestacas na saída da casa de sombra (ENRSCS), em resposta à aplicação de AIB (0, 1000, 2000 e 4000 mg l⁻¹), para os quatro clones estudados.

O enraizamento das microestacas e miniestacas em resposta à aplicação de 0 a 2000 mg Γ^1 de AIB apresentou-se pouco diferenciado no clone CC8, dentro da microestaquia, ocorrendo decréscimo a partir dessa dosagem. Na miniestaquia, as dosagens que apresentaram melhores resultados foram de 1000 e 2000 mg Γ^1 , sendo esses valores muito próximos dos obtidos com a dosagem de 0 mg Γ^1 . Para a dosagem de 4000 mg Γ^1 , observou-se queda muito acentuada no percentual.

O clone CC11, na microestaquia, apresentou comportamento semelhante ao do CC8 dentro da mesma técnica. Na miniestaquia, porém, o CC11 apresentou decréscimos acentuados nos percentuais a partir da dosagem de 2000 mg Γ^1 , demonstrando maior sensibilidade ao AIB.

No clone CC12 não foi observado efeito da utilização de AIB na microestaquia, com valores superiores a 95% em todas as dosagens. Na miniestaquia, comportamento semelhante foi observado nas dosagens entre 0 e 2000 mg Γ^1 , com pequeno decréscimo desse percentual na dosagem de 4000 mg Γ^1 .

Em termos gerais, as dosagens de 0 a 2000 mg Γ^1 de AIB não tiveram grandes variações na percentagem de enraizamento das microestacas e miniestacas. A exceção foi o clone CC1, em que tomando por base a dosagem de 2000 mg Γ^1 , obtiveram-se índices de enraizamento na saída da casa de sombra de 12,49 e 16,14% superiores na microestaquia e miniestaquia, respectivamente, em detrimento da não-aplicação de AIB. A dosagem de 4000 mg Γ^1 apresentou os menores índices de enraizamento, sendo estes mais evidenciados nos clones CC8 e CC11, principalmente na miniestaquia.

Na sobrevivência das mudas aos 50 dias, o comportamento apresentado pelos clones, dentro da microestaquia, foi bastante semelhante ao do enraizamento na saída da casa de sombra. Já na miniestaquia houve maiores variações entre as dosagens e decréscimos mais elevados nos percentuais, o que pode ser observado na Figura 14.

No clone CC1, observou-se a superioridade dos percentuais nas dosagens de 1000, 2000 e 4000 mg Γ^1 em relação à não-aplicação de AIB. Considerando a

dosagem de 1000 mg Γ^1 , os índices apresentados foram de 16,69 e 19,23% superiores em relação à não-aplicação de AIB, na microestaquia e miniestaquia, respectivamente.

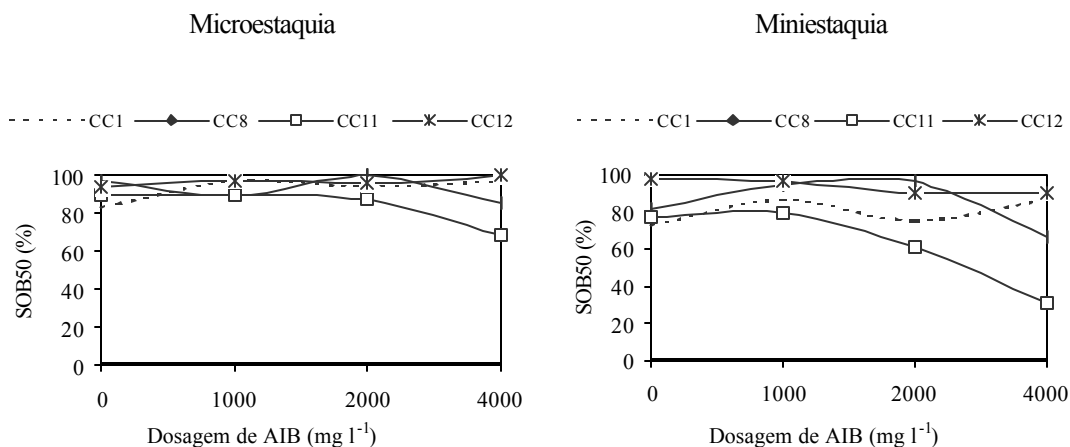


Figura 14 – Sobrevivência das mudas aos 50 dias de idade (SOB50), em resposta à aplicação de AIB (0, 1000, 2000 e 4000 mg Γ^1), para os quatro clones estudados.

Na microestaquia, a aplicação de 0 e 2000 mg Γ^1 de AIB não apresentou variações nos clones CC8 e CC11, sendo, a partir dessa dosagem, observado queda nos percentuais. Na miniestaquia, o clone CC8 exibiu melhor resultado na dosagens de 2000 mg Γ^1 , significando acréscimo de 17,84% em relação a não-aplicação de AIB. No clone CC11, as dosagens de 0 e 1000 mg Γ^1 foram as melhores, sendo observado, também, queda bastante alta nos índices a partir dessa dosagem. No clone CC12, à semelhança dos resultados obtidos na saída da casa de sombra, a utilização de AIB não teve efeito significativo na microestaquia. Na miniestaquia, no entanto, observou-se certa tendência ao decréscimo nos percentuais com o aumento das dosagens de AIB.

A expectativa inicial era de que a aplicação de AIB não promovesse efeito positivo na microestaquia, concordando com os trabalhos de XAVIER e COMÉRIO (1996) e ASSIS et al. (1992). No entanto, os resultados obtidos indicaram efeito positivo da aplicação de AIB sobre o clone CC1. Quanto à

miniestaquia, esperava-se, à semelhança dos resultados obtidos por WENDLING et al. (2000b), aumento nos índices de enraizamento e sobrevivência com a aplicação de AIB, os quais foram confirmados pelos clones CC1, CC8 e CC11, nas dosagens de 0 a 2000 mg l⁻¹.

Quanto à comparação da microestaquia e da miniestaquia, o enraizamento das microestacas foi menos influenciado pelo AIB, apontando maior vigor vegetativo destas em relação às miniestacas.

Essa diversidade de resposta dos clones em relação à utilização do regulador de crescimento AIB pode estar associada a condições de maturação do material (WILSON, 1994; KAMLESH et al., 1995), diferenças do material genético (WILSON, 1994; CHUNG et al., 1994) e condições ambientais, entre outros fatores.

Nas Figuras 15 e 16 são apresentados os resultados do crescimento em altura e diâmetro do coleto das mudas aos 50 dias de idade, na microestaquia e miniestaquia, em resposta à aplicação de AIB.

Notou-se, nas duas técnicas, que os clones estudados apresentaram crescimento em altura e em diâmetro do coleto bastante diferenciado entre eles. No entanto, dentro de cada clone, não foram observadas as diferenças entre as dosagens de AIB utilizadas.

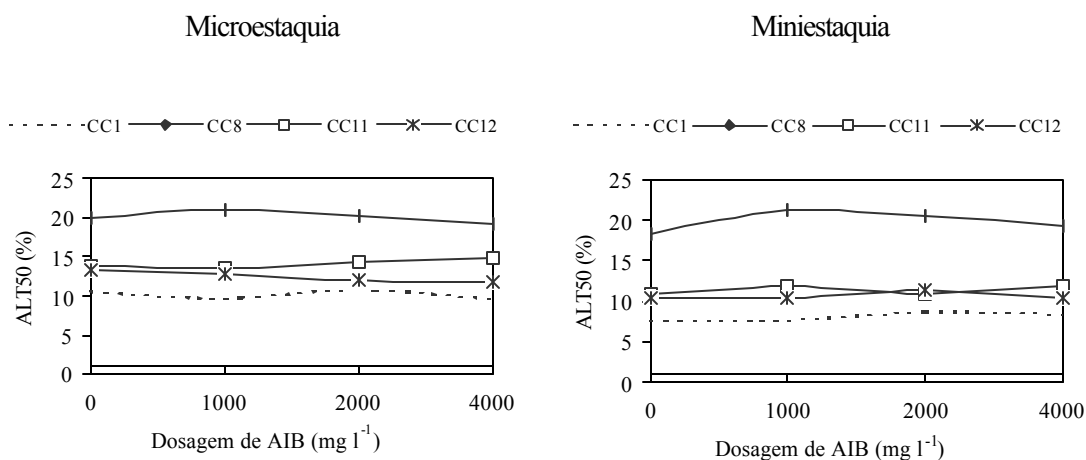


Figura 15 – Altura das mudas aos 50 dias de idade (ALT50), em resposta à aplicação de AIB (0, 1000, 2000 e 4000 mg l⁻¹), para os quatro clones estudados.

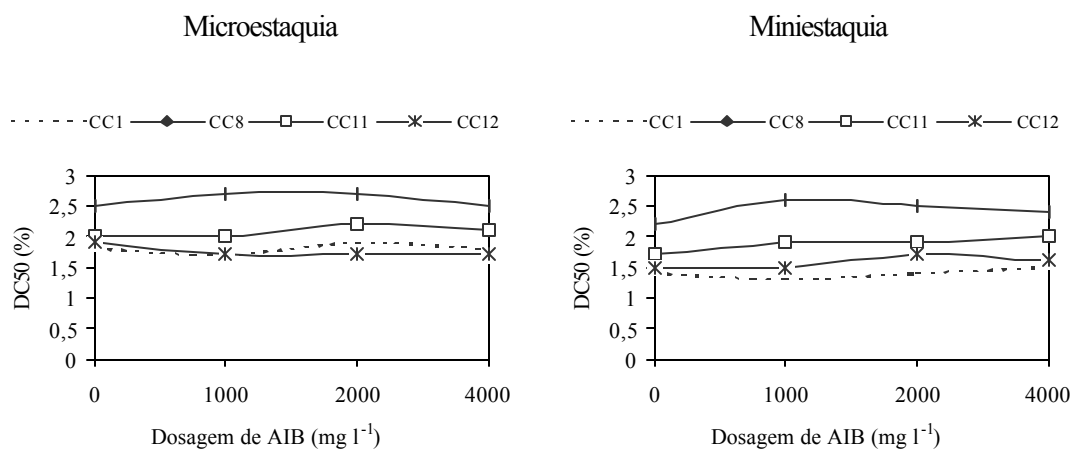


Figura 16 – Diâmetro do coleto das mudas aos 50 dias de idade (DC50), em resposta à aplicação de AIB (0, 1000, 2000 e 4000 mg l⁻¹), para os quatro clones estudados.

Esses resultados evidenciam que as dosagens de AIB utilizadas não tiveram influência no crescimento das mudas, com a ressalva de que esse parâmetro, de acordo com CARNEIRO (1995), pode ser facilmente modificado conforme o manejo empregado no processo de produção da muda.

Em termos gerais, com relação às características de sobrevivência na saída da casa de vegetação, ao enraizamento na saída da casa de sombra e à sobrevivência das mudas aos 50 dias de idade, observou-se diversidade de resposta dos clones em relação às dosagens do regulador de crescimento AIB. Entretanto, não foi verificado efeito do AIB nas características altura e diâmetro do coleto, nos quatro clones, tanto na microestaquia como na miniestaquia.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

O presente estudo objetivou avaliar a propagação clonal de quatro clones de *Eucalyptus grandis*, através das técnicas de microestaquia e de miniestaquia, analisando-se: a) sobrevivência, vigor e capacidade produtiva das microcepas e minicepas em coletas sucessivas de microestacas e miniestacas; b) sobrevivência, enraizamento e vigor das microestacas e miniestacas; e c) efeito da aplicação do regulador de crescimento AIB (0, 1000, 2000 e 4000 mg l⁻¹) sobre a sobrevivência, o enraizamento e o vigor das microestacas e miniestacas.

O jardim microclonal foi constituído de microcepas oriundas de mudas rejuvenescidas pela micropropagação através de subcultivos *in vitro*, e no jardim miniclonal foram utilizadas minicepas obtidas pelo enraizamento de miniestacas oriundas de brotações de plantas propagadas pelo método da estaquia convencional. No enraizamento das microestacas e miniestacas foram utilizadas estruturas de casa de vegetação, com tempo de permanência variando entre 21 e 28 dias, em razão dos tratamentos, com aclimação de oito dias em casa de sombra e avaliação final das mudas realizada aos 50 dias de idade.

De maneira geral, considerando as condições em que o experimento foi desenvolvido, obtiveram-se os seguintes resultados:

- A sobrevivência das microcepas e minicepas foi superior a 98%, indicando ser viável tecnicamente a produção de microestacas e miniestacas nas

sucessivas coletas realizadas, conforme o manejo adotado na condução dos jardins clonais.

- A produção de microestacas e de miniestacas variou entre os clones e entre as coletas realizadas. Entretanto, entre as técnicas de microestaquia e miniestaquia não houve grande variação dos resultados em relação a produção, vigor e sobrevivência das microcepas e minicepas. Dessa forma, nas características de sobrevivência, produção e vigor das microcepas e minicepas não foi observado efeito significativo do rejuvenescimento *in vitro* sobre os clones em estudo.
- Para sobrevivência na saída da casa de vegetação, enraizamento na saída da casa de sombra e sobrevivência das mudas aos 50 dias, foram observados resultados superiores na microestaquia em relação à miniestaquia, sendo tal diferença mais pronunciada nos clones com maior dificuldade de enraizamento, indicando, nesses casos, possível efeito de rejuvenescimento dos clones com o uso da microestaquia.
- Quanto ao crescimento em altura e diâmetro do coleto das mudas aos 50 dias de idade e peso de matéria seca de raiz aos 28 dias, as mudas da microestaquia, em geral, apresentaram valores iguais ou superiores aos da miniestaquia, principalmente, dos clones com maior dificuldade de enraizamento, reforçando a suposição de maior grau de juvenilidade das microestacas em detrimento das miniestacas.
- Em relação aos tempos de 21 e 28 dias de permanência em casa de vegetação, não se observou influência desses tempos na sobrevivência e no enraizamento das microestacas e miniestacas, indicando que o tempo de 21 dias é suficiente para o enraizamento de microestacas e miniestacas.
- As microestacas demonstraram maior habilidade de enraizamento em relação às miniestacas, através do vigor de emissão de raízes, número e comprimento de raízes, sendo essa diferença mais evidente nos clones de difícil enraizamento.

- Quanto às correlações entre características, de modo geral, a produção de microestacas e miniestacas por microcepas e minicepas não influenciou os resultados de enraizamento nem de crescimento das mudas. Já no enraizamento na saída da casa de sombra e na sobrevivência aos 50 dias, a correlação foi altamente significativa, indicando a confiabilidade do enraizamento na saída da casa de sombra em relação à obtenção da muda.
- Com relação à aplicação de AIB, na miniestaquia se observou aumento nos índices de enraizamento e sobrevivência das miniestacas, nas dosagens de 1000 e 2000 mg l⁻¹, na maioria dos clones. Na microestaquia, em geral, não se observou efeito no enraizamento e na sobrevivência das microestacas, entretanto ocorreram valores iguais ou superiores aos obtidos na miniestaquia, indicando maior vigor das microestacas em relação às miniestacas.

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que a metodologia adotada no presente estudo, quanto à condução dos jardins clonais, é tecnicamente viável na sustentabilidade da produção de microestacas e miniestacas de *Eucalyptus grandis*, através de coletas sucessivas. Pode-se concluir, também, que clones com maior dificuldade de enraizamento apresentam maior resposta ao rejuvenescimento *in vitro* pelo uso da microestaquia, resultando em maior eficiência de enraizamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHUJA M. R. Biotechnology and clonal forestry. In: AHUJA, M. R., LIBBY, W. J. (Eds.). **Clonal forestry: genetics and biotechnology**. Budapest: Springer-Verlag, 1993. p. 135-144.
- ALVAREZ, C. M. C., RESTREPO, L. M. M. Propagacion “in vitro” de *Eucalyptus grandis*. **Cronica Forestal y de Medio Ambiente**, n.8, p.35-42, 1993.
- ASSIS, T. F. Melhoramento genético do eucalipto. **Informe Agropecuário**, v. 18, n. 185, p. 32-51, 1996a.
- ASSIS, T. F. Propagação vegetativa de *Eucalyptus* por microestaquia. In: REUNIÃO TÉCNICA DE PROPAGAÇÃO VEGETATIVA, 11, REUNIÃO DE SILVICULTURA CLONAL, 1, 1996, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, SP: ESALQ/USP, 1996b. p. 1-9.
- ASSIS, T. F. Propagação vegetativa de *Eucalyptus* por microestaquia. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPTS, 1997, Salvador. **Proceedings...** Colombo, PR: EMBRAPA, 1997. v. 1, p. 300-304.
- 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., TEIXEIRA, S. L. Enraizamento de plantas lenhosas. In: TORRES, A. C., CALDAS, L. S., BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPq, 1998. p. 261-296.

- BERTOLOTI, G., GONÇALVES, A. N. **Produção de mudas de essências florestais em tubos de ensaio**. Piracicaba, SP: IPEF/ESALQ-USP, 1979. 8p. (Circular Técnica, 69).
- BERTOLUCCI, F. L. G., PENCHEL, R. M. Clonagem de eucalipto: efeitos sobre a produtividade e qualidade da madeira. **Ciência Hoje**, v. 16, n. 91, p. 16-21, 1991. (Suplemento).
- BLAZICH, F. A. Chemicals and formulations used to promote adventitious rooting. In: DAVIES, T. D., HAISSIG, B. E., SANKHLA, N. (Eds.). **Adventitious root formation in cuttings**. Portland: Dioscorides Press, 1987. p. 132 - 149. (Advances in Plant Sciences Series, 2).
- 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. 129p. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 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. 236p.
- CAMPINHOS JR., E., IKEMORI, Y. K. Mass production of *Eucalyptus* spp. by rooting cuttings. In: IUFRO SYMPOSIUM AND WORKSHOP ON GENETIC IMPROVEMENT AND PRODUCTIVITY OF FAST-GROWING TREE SPECIES, 1980, Águas de São Pedro, SP. **Anais...** [S.l.]: IUFRO, 1980. p. 2-17.
- CARNEIRO, J. G. A. **Produção e controle de qualidade de mudas florestais**. Curitiba: UFPR/FUPEF, 1995. 451p.
- CHALFUN, N. N. J. **Fatores bioquímicos e fisiológicos no enraizamento de estacas de *Hibiscus rosa-sinensis* L.** Viçosa, MG: UFV, 1989. 85 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Viçosa, 1989.
- 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.
- CHUNG, D. Y., LEE, K. J. Effects of clones, ortet age, crown position, and rooting substance upon the rooting of cuttings of Japanese larch (*Larix leptolepis* S. et Z. Gordon). **Forestry Genetics Research Institute**, v. 83, n. 2, p. 205-210, 1994. (CD-ROM. Abstract).

- 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., VanWYK, G. **Eucalypt domestication and breeding**. Oxford: Clarendon Press, 1994. p. 228-246.
- EWALD, D., KRETZCHMAR, U. The influence of micrografting *in vitro* on tissue culture behavior and vegetative propagation of old European larch trees. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.44, p. 249-252, 1996.
- FERREIRA, M. G. R. **Crescimento de mudas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden, em resposta a tamanhos de embalagem, substratos e fertilização NPK**. Viçosa, MG: UFV, 1994. 44p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal)-Universidade Federal de Viçosa, 1994.
- FERREIRA, M. Melhoramento e a silvicultura intensiva clonal. **IPEF**, v.45, p.22-30, 1992.
- FRANCLLET, A., BOULAY, M., BEKKAOUI, F., FOURET, Y., VERSCHOORE-MARTOUZET, B., WALKER, N. Rejuvenation. In: BONGA, J. M., DURZAN, D. J. (Eds.). **Cell and tissue culture in forestry**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1987. v.1, p.232-248.
- GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture – The technology**. 6.ed. England: Exegetics, 1993. v.1, 574p.
- GOMES, A. L. **Propagação clonal: princípios e particularidades**. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 1987. 69p. (Série Didáctica, Ciências Aplicadas, 1).
- GONÇALVES, A. N. **Reversão à juvenildade e clonagem de *Eucalyptus urophylla*. S. T. *in vitro***. Piracicaba, SP: ESALQ, 1982. 97p. Tese (Doutorado em Agronomia)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1982.
- 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-CNPQ, 1998. v.1, p.183-260.
- GREENWOOD, M. S., HUTCHISON, K. W. Maturation as a development process. In: AHUJA, M. R., LIBBY, W. J. (Eds.). **Clonal forestry: genetics and biotechnology**. Budapest: Springer-Verlag, 1993. p. 14-33.
- HACKETT, W. P. Juvenility and maturity. In: BONGA, J. M., DURZAN, D. J. (Eds.). **Cell and tissue culture in forestry**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1987. v.1, p.216-231.

- 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. **Propagacion de plantas, principios e prácticas**. 5.ed. México: Editorial Continental, 1978. 810p.
- 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. 770p.
- HUANG, L. C., CHIU, D. S., MURASHIGE, T., GUNDY, M, E. F. M., NAGAI, K., ALFARRO, F. P. Rejuvenation of trees and others perennials for restoration of plant regeneration competence. In: TORRES, A. C., CALDAS, L. S. (Eds.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos em plantas**. Brasília: ABCPT/EMBRAPA-CNPH, 1990. p. 252-264.
- IANNELLI, C., XAVIER, A., COMÉRIO, J. Micropropagação de *Eucalyptus* na Champion. **Silvicultura**, n. 66, p. 33-35, 1996.
- IKEMORI, Y. K. **Resultados preliminares sobre enraizamento de estacas de *Eucalyptus* spp.** [S. l.: s. n. t.], 1975. 12p. (Informativo Técnico Aracruz, 1).
- IRITANI, C., SOARES, R. V. Indução do enraizamento de estacas de *Araucaria angustifolia* através da aplicação de reguladores de crescimento. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 4, 1982, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: SBS, 1983. p. 313-317.
- JONARD, R. Micrografting and its applications to tree improvement. In: BAJAJ, Y. P. S. (Ed.). **Biotechnology in agriculture and forestry**. Berlin: Springer-Verlag, 1986. v.1: Trees, p.31-48.
- KAMLESH, K., SWAMY, S. L., SEHGAL, R. N., KHOSLA, P. K. Effect of auxins and carbendazim on rooting of juvenile and mature stem cuttings of *Grewia optiva*. **Indian Journal of Forestry**, v. 18, n. 1, p. 61-65, 1995. (CD-ROM. Abstract).
- MALAVASI, U. C. Macropropagação vegetativa de coníferas - perspectivas biológicas e operacionais. **Floresta e Ambiente**, v. 1, n. 1, p. 131-35, 1994.
- MONTEUUIS, O. *In vivo* grafting and *in vitro* micrografting of *Acacia mangium*: impact of ortet age. **Silvae Genetica**, v. 44, n. 2, p. 190-193, 1995.
- MURASHIGE, T., SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.437-497, 1962.
- PAIVA, H. N., GOMES, J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Viçosa, MG: UFV, 1995. 40p. (Boletim, 322).

- PAIVA, H.N., GOMES, J. M., COUTO, L., SILVA, A. R. Propagação vegetativa de eucalipto por estaquia. **Informe Agropecuário**, v. 18, n. 185, p. 23-27, 1996.
- PAZ, O. P. da, PASQUAL, M. Microenxertia. In: TORRES, A. C., CALDAS, L. S., BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPq, 1998. v.1, p.147-159.
- PLIEGO-ALFARO, F., MURASHIGE, T. Possible rejuvenation of adult avocado by graftage onto juvenile rootstocks *in vitro*. **HortScience**, v. 22, n.6, p. 1321-1324, 1987.
- RATNIEKS, E., ASSIS, T. F. O que há adiante da árvore? **O papel**, v. 54, n. 1, p. 41-48, 1993.
- RIBEIRO, F. A. **A indução ao rebrotamento como alternativa para a manutenção da produtividade de *Eucalyptus grandis* W. Will ex Maidens**. Viçosa, MG: UFV, 1988. 100p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal)-Universidade Federal de Viçosa, 1988.
- SCHMIDT, D. V. C. **Crescimento de mudas de *Eucalyptus camaldulensis* e *Eucalyptus grandis* em resposta à fertilização potássica e à calagem**. Viçosa, MG: UFV, 1995. 57 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal)-Universidade Federal de Viçosa, 1995.
- SILVA, L. L. **Propagação *in vitro* de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden, a partir de gemas epicórmicas**. Viçosa, MG: UFV, 1990. 60p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal)-Universidade Federal de Viçosa, 1990.
- SINISCALCO, C., PAVOLETTONI, L. Rejuvenation of *Eucalyptus* x *Trabutti* by successive grafting. **Acta Horticulturae**, n. 227, p.98-100, 1988.
- WENDLING, I. **Propagação clonal de híbridos de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia**. Viçosa, MG: UFV, 1999. 70p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal)-Universidade Federal de Viçosa, 1999.
- WENDLING, I., XAVIER, A., GOMES, J. M., PIRES, I. E., ANDRADE, H.B. Propagação clonal de híbridos de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia. **Revista Árvore**, v. 24, n.2, p.181-186, 2000a.
- WENDLING, I., XAVIER, A., GOMES, J. M., PIRES, I. E., ANDRADE, H.B. Efeito do regulador de crescimento AIB na propagação de clones de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia. **Revista Árvore**, v. 24, n.2, p.187-192, 2000b.
- WHITE, P. R. Further evidence on the significance of glycine, pyridoxine and nicotinic acid in the nutrition of excised tomato roots. **American Journal of Botany**, v.30, p.33-36, 1943.

- WILSON, P. J. Contributions of the leaves and axillary shoots to rooting in *Eucalyptus grandis* Hil a Maid. stem cuttings. **Journal of Horticultural Science**, v. 69, n. 6, p. 999-1007, 1994a.
- WILSON, P. J. The concept of a limiting rooting morphogen in woody stem cuttings. **Journal of Horticultural Science**, v. 9, n. 4, p. 391-400, 1994b.
- 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 microestaquia e da micropropagação na clonagem de *Eucalyptus* spp. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPTS, 1997, Salvador. **Proceedings...** Colombo, PR: EMBRAPA, 1997. v. 4, p. 40-45.
- XAVIER, A., WENDLING, I. **Miniestaquia na clonagem de *Eucalyptus***. Viçosa, MG: SIF, 1998. 10p. (Informativo Técnico SIF, 11).
- ZACZEK, J. J., STEINER, K. C. Grafting-mediated meristem selection influences rooting success of *Quercus rubra*. **Canadian Journal of Forestry Resources**, n. 27, 86-90, 1997.
- ZOBEL, B. J. Clonal forestry in the eucalypts. In: AHUJA, M. R., LIBBY, W. J. (Eds.). **Clonal forestry: conservation and application**. Budapest: Springer-Verlag, 1993. p. 139-148.
- ZOBEL, B., TALBERT, J. **Applied forest tree improvement**. New York: North Carolina State University, 1984. 505p.