

PATRÍCIA BUENO GOULART

INFLUÊNCIA DO ACONDICIONAMENTO, ANTIOXIDANTES, AUXINAS
E SEUS COFATORES NO ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE
CLONES DE *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*

Dissertação 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
2006

PATRÍCIA BUENO GOULART

INFLUÊNCIA DO ACONDICIONAMENTO, ANTIOXIDANTES, AUXINAS
E SEUS COFATORES NO ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE
CLONES DE *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*

Dissertação 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 EM: 15 de dezembro de 2006.

Prof. José Maria Moreira Dias
(Co-Orientador)

Prof. Wagner Campos Otoni
(Co-Orientador)

Prof. Ismael Eleotério Pires

Prof. Haroldo Nogueira de Paiva

Prof. Aloisio Xavier
(Orientador)

*À minha família, especialmente aos meus pais Luis Paulo e Ligia
e ao meu noivo Frederico.*

Ao meu Tio Robertinho pelo exemplo de dedicação.

*“A verdadeira medida de um homem não é como
ele se comporta em momentos de conforto e
conveniência, mas como ele se mantém em
tempos de controvérsia e desafio.”*

Martin Luther King

AGRADECIMENTOS

A Deus.

À minha família, pelo amor, apoio e compreensão.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, pela oportunidade de realização de mais esta etapa.

Ao Professor Aloisio Xavier, pela orientação, amizade, confiança e lições de vida.

À International Paper do Brasil Ltda., pela disponibilização do material genético (clones) e pelo apoio financeiro, de pessoal e de infra-estrutura.

Aos meus co-orientadores, Prof. José Maria e Prof. Wagner e aos membros da banca examinadora, pelas críticas e sugestões.

Aos integrantes do Grupo de Pesquisa e Desenvolvimento em Silvicultura Clonal (GSC) e do Laboratório de Cultura de Tecidos II, em especial à minha querida amiga Fabiana, Maure, Fernanda, Elisa, Miranda e Rogério pela ajuda e convivência.

Ao Professor Wagner, Vânia Valente e Lourdes Iarema, pelas sugestões e pela grande ajuda na realização dos trabalhos no Laboratório de Anatomia Vegetal da UFV.

À Ritinha do Departamento de Engenharia Florestal, pelo carinho e apoio em todos os momentos.

À toda equipe de Pesquisa e Desenvolvimento Florestal da International Paper do Brasil Ltda., em especial ao Narcísio, Maria Sebastiana, Luis, Jair Gabriel, Beto, Simone Takahashi, Adriano Almeida, José Mário, Luis Fernando, Dásio, Flávio Augusto, Emerson Preto e Rozane Eisfeld, pelo apoio em todo trabalho e amizade.

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

BIOGRAFIA

PATRÍCIA BUENO GOULART, filha de Luis Paulo Goulart de Sousa e Maria Lígia Bueno Goulart de Sousa, nasceu em 21 de junho de 1980, em Campinas, SP.

Em 1994, concluiu o 1º grau no Colégio Ave Maria, em Campinas, SP.

Em 1997, concluiu o 2º grau técnico em Processamento de Dados na Escola Salesiana São José – ETEC, em Campinas, SP.

Em 2004, diplomou-se em Engenharia Florestal pela Universidade Federal de Lavras, em Lavras, MG.

Em agosto de 2004, 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 a defesa de tese em dezembro de 2006.

De julho de 2005 a julho de 2006, trabalhou como trainee na empresa florestal International Paper do Brasil Ltda, em Mogi Guaçu, SP.

SUMÁRIO

RESUMO	Erro! Indicador não definido.
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REFERÊNCIAS	4
EFEITO DOS REGULADORES DE CRESCIMENTO AIB E ANA NO ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE CLONES DE <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>Eucalyptus urophylla</i>	6
RESUMO	6
ABSTRACT	6
1. INTRODUÇÃO	7
2. MATERIAL E MÉTODOS	9
2.1. Material experimental	9
2.2. Manejo do minijardim clonal	9
2.3. Obtenção, preparo, plantio e enraizamento das miniestacas	10
2.4. Avaliações experimentais	11
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
3.1. Sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação	12
3.2. Enraizamento e altura das miniestacas na saída da casa de sombra	13
3.3. Sobrevivência, altura, diâmetro de colo e matéria seca das miniestacas enraizadas	15
4. CONCLUSÕES	16
5. REFERÊNCIAS	16
EFEITO DE COFADORES NO ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE CLONES DE <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i>	19
RESUMO	19
ABSTRACT	19
1. INTRODUÇÃO	20
2. MATERIAL E MÉTODOS	22

2.1. Material experimental	22
2.2. Manejo do minijardim clonal	22
2.3. Obtenção, preparo, plantio e enraizamento das miniestacas	23
2.4. Avaliações experimentais	24
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
3.1. Eficiência do ácido cafeico no enraizamento adventício	24
3.2. Eficiência do ácido clorogênico no enraizamento adventício	27
3.3. Eficiência da fenilalanina no enraizamento adventício	30
3.4. Eficiência do floroglucinol no enraizamento adventício	34
3.5. Eficiência da hidroquinona no enraizamento adventício	36
3.6. Eficiência da prolina no enraizamento adventício	38
3.7. Eficiência do triptofano no enraizamento adventício	41
4. CONCLUSÕES	44
5. REFERÊNCIAS	44

EFEITO DE ANTIOXIDANTES NO ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE CLONES DE <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i>	47
---	----

RESUMO	47
--------------	----

ABSTRACT	47
----------------	----

1. INTRODUÇÃO	48
---------------------	----

2. MATERIAL E MÉTODOS	50
-----------------------------	----

2.1. Material experimental	50
----------------------------------	----

2.2. Manejo do minijardim clonal	50
--	----

2.3. Obtenção, preparo, plantio e enraizamento das miniestacas	51
--	----

2.4. Avaliações experimentais	52
-------------------------------------	----

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
---------------------------------	----

3.1. Eficiência do ácido ascórbico no enraizamento adventício	53
---	----

3.2. Eficiência do carvão ativado no enraizamento adventício	56
--	----

3.3. Eficiência do PVP no enraizamento adventício	59
---	----

4. CONCLUSÕES	61
---------------------	----

5. REFERÊNCIAS	62
----------------------	----

EFEITO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO DE MINIESTACAS NO ENRAIZAMENTO DE CLONES DE <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i>	64
--	----

RESUMO	64
--------------	----

ABSTRACT	64
----------------	----

1. INTRODUÇÃO	65
---------------------	----

2. MATERIAL E MÉTODOS	66
-----------------------------	----

2.1. Material experimental	66
----------------------------------	----

2.2. Manejo do minijardim clonal	66
--	----

2.3. Obtenção, preparo, plantio e enraizamento das miniestacas	67
--	----

2.4. Avaliações experimentais.....	68
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
4. CONCLUSÕES.....	72
5. REFERÊNCIAS	72

INFLUÊNCIA DO MODO DE ACONDICIONAMENTO DE MINIESTACAS NO ENRAIZAMENTO DE CLONES DE <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i>	74
RESUMO	74
ABSTRACT	74
1. INTRODUÇÃO	75
2. MATERIAL E MÉTODOS	76
2.1. Material experimental	76
2.2. Manejo do minijardim clonal	76
2.3. Obtenção, preparo, plantio e enraizamento das miniestacas.....	77
2.4. Avaliações experimentais.....	78
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
3.1. Sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação.....	79
3.2. Enraizamento e altura das miniestacas na saída da casa de sombra.....	81
3.3. Sobrevivência, altura, diâmetro de colo e matéria seca das miniestacas enraizadas	83
4. CONCLUSÕES.....	87
5. REFERÊNCIAS	88

CARACTERIZAÇÃO MORFO-ANATÔMICA DA RIZOGÊNESE ADVENTÍCIA EM MINIESTACAS DE CLONES DE <i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i>	89
RESUMO	89
ABSTRACT	89
1. INTRODUÇÃO	90
2. MATERIAL E MÉTODOS	94
2.1. Material experimental	94
2.2. Manejo do minijardim clonal	94
2.3. Obtenção, preparo, plantio e enraizamento das miniestacas.....	95
2.4. Avaliações experimentais.....	96
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	97
4. CONCLUSÕES.....	113
5. REFERÊNCIAS	113
3. CONCLUSÕES GERAIS	115

RESUMO

GOULART, Patrícia Bueno, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2006.

Influência do acondicionamento, antioxidantes, auxinas e seus cofatores no enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Orientador: Aloisio Xavier. Co-Orientadores: José Maria Moreira Dias e Wagner Campos Otoni.

O presente trabalho teve como objetivos a avaliação da influência do acondicionamento, antioxidantes, auxinas e seus cofatores no enraizamento adventício, bem como o padrão da rizogênese de miniestacas de quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. Foram utilizadas miniestacas de quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* coletadas em minijardim clonal, conduzido em sistema de hidroponia em canaletas. Verificou-se, quanto às características avaliadas, que os clones responderam mais eficientemente às aplicações do regulador de crescimento AIB do que às aplicações de ANA, sendo que as doses entre 500 a 2000 mg L⁻¹ de AIB mostraram-se mais eficientes para os clones estudados. Quanto à utilização dos cofatores associados ao AIB, no tratamento das miniestacas, observou-se que o ácido clorogênico e a hidroquinona melhoraram os índices de enraizamento e de sobrevivência dos três clones; a fenilalanina e o floroglucinol melhoraram os referidos índices em dois clones; somente o ácido cafeico, o triptofano e, principalmente, a prolina melhoraram essas respostas em todos os clones estudados. As respostas dos clones em relação à aplicação dos antioxidantes foram variadas, aonde os melhores índices de enraizamento e de sobrevivência das plantas foram obtidos com a utilização do ácido ascórbico e do carvão ativado para apenas um clone, no entanto o PVP mostrou-se eficiente em todos os clones avaliados. A melhor estratégia foi o plantio das miniestacas logo após a coleta no minijardim clonal, por proporcionar os melhores índices de enraizamento e sobrevivência para os quatro clones, sendo observado efeito negativo do armazenamento dos propágulos, mesmo quando realizado por curto período de tempo. Quanto ao modo de acondicionamento das miniestacas verificou-se que os melhores resultados foram obtidos com o acondicionamento das miniestacas em posição vertical na vermiculita, podendo ser associado com PVP, em função do clone. Os resultados obtidos permitiram concluir que as respostas dos clones em relação à utilização de reguladores de crescimento, cofatores e antioxidantes foram diferenciadas quanto ao enraizamento e sobrevivência das plantas devido às diferenças genótípicas dos materiais estudados. Quanto ao conhecimento do padrão da rizogênese das miniestacas dos clones estudados foi observada a origem endógena de primórdios radiculares, a proliferação e a formação de uma massa de células desorganizadas (calos) em miniestacas com até 12 dias de idade, sendo que um clone destacou-se dos demais por apresentar primórdios radiculares a partir de 8 dias após o plantio das miniestacas.

ABSTRACT

GOULART, Patrícia Bueno, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December 2006.
Influence of conditioning, antioxidants, auxins and their cofactors on the rooting of minicuttings of *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* clones. Adviser: Aloisio Xavier.
Co-Advisers: José Maria Moreira Dias and Wagner Campos Otoni.

The purpose of this study was to evaluate the influence of storage, antioxidants, auxins and their cofactors on the resulting rooting, as well as rooting rhizogenesis patterns in minicuttings of four *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* clones. The samples were collected from a clonal hydroponic minigarden. Regarding the evaluated characteristics, it was observed that the clones responded more effectively to the applications of IBA growth regulator than to the ANA applications, with the IBA doses ranging from 500 and 2,000 mg L⁻¹ being more effective on the examined clones. As for the treatment of the minicuttings using cofactors associated to IBA, it was observed that chlorogenic acid and hydroquinone improved the rooting and survival indices in three clones; phenylalanine and phloroglucinol improved said indices in two of the clones; while only caffeic acid, tryptophane and especially proline improved these responses in all examined clones. The responses to the application of antioxidants varied: the best plant rooting and survival indices were obtained with the use of ascorbic acid and activated carbon with only one clone; whereas PVP showed to be effective with all the examined clones. The best technique was to plant the minicuttings immediately upon their harvest from a clonal minigarden, since it provided the best rooting and survival indices with all four clones, and avoided a negative impact on the propagators due to storage, even when stored for only a short period of time. As for the means used to store the minicuttings, it was observed that the best results were obtained by conditioning the minicuttings in a vertical position with a composite of vermiculite and PVP, possibly due to the specific use of PVP with certain types of clone. The obtained results allow the conclusion that there's a strong correlation between the genotypic differences of the analyzed materials and the plants rooting and their survival success as a response to the use of growth regulators, cofactors and antioxidants on different clones. Thanks to this study new information was brought about regarding the rhizogenesis patterns of minicuttings of the examined clones. It was observed the presence of an endogenous origin of the root primordia as well as the formation and proliferation of a disorganized mass of cells (calli) in minicuttings of up to 12 days old, with one H1 clone standing out from the others for having presented root primordia on or after the eighth day after the minicuttings were planted.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A propagação clonal do gênero *Eucalyptus* é amplamente utilizada em diversas empresas florestais, por possibilitar a obtenção de maior produtividade e uniformidade dos plantios e adaptação de clones específicos para determinadas localidades, além da maximização da produção de madeira, em comparação com plantios originários de sementes (ASSIS, 1996; COMÉRIO et al., 1996; XAVIER e COMÉRIO, 1996; XAVIER, 2002).

Historicamente, a propagação clonal de essências florestais é utilizada há muitos anos e, segundo a literatura, a estaquia é utilizada pelos japoneses em *Cryptomeria japonica* e pelos chineses em *Cunninghamia lanceolata*, há muitos séculos (BONGA e VON ADERKAS, 1992).

No Brasil, registros apontam que a clonagem de *Eucalyptus* impulsionou-se a partir de 1970, dada a necessidade de formação de florestas produtivas em áreas em que estas apresentavam restrições, quando originadas a partir de sementes. Os primeiros estudos utilizando brotações de árvores adultas iniciaram-se com Poggiani e Suiter Filho, em 1974. Porém, a produção massal de plantas clonais iniciou-se na região litorânea do Espírito Santo em 1979, estendendo-se, posteriormente, a outras regiões do Brasil (CAMPINHOS e IKEMORI, 1983).

Nos últimos anos, foram desenvolvidas metodologias de propagação vegetativa de *Eucalyptus* que aperfeiçoaram a técnica de estaquia, denominadas miniestaquia e microestaquia, as quais proporcionaram a minimização de algumas dificuldades no processo de produção de plantas de certos clones e espécies, principalmente no que se refere ao material adulto, variação entre clones, fatores relacionados ao enraizamento e desenvolvimento da futura árvore (TITON, 2001; XAVIER, 2002).

Apesar, no entanto, da evolução das pesquisas visando à maximização do enraizamento de *Eucalyptus*, pouco se conhece sobre os fundamentos biológicos da formação

de raízes adventícias e o papel de substâncias promotoras e cofatores (como aminoácidos, proteínas, vitaminas, carboidratos, mono e difenóis) do processo de enraizamento adventício.

Na propagação vegetativa por enraizamento de estacas, o sistema radicular é denominado adventício, pois a raiz formada a partir da estaca foi induzida em um local diferente daquele onde normalmente se formaria e desenvolveria uma raiz. Essa raiz pode ser originada de uma raiz pré-formada ou de outras raízes iniciais latentes e através da indução da raiz por meio do preparo de uma estaca (XAVIER, 2002). No caso da raiz adventícia, esta pode ser originada de células parenquimáticas vivas, calos, câmbio, raio vascular ou medular, floema, córtex, lenticelas ou canais resiníferos (APPEZZATO-DA-GLÓRIA et al., 2003), sendo que a formação do sistema radicular pode ser direta ou indireta (formação de calo antes do desenvolvimento do sistema radicular).

Segundo HARTMANN et al. (2002), durante o processo de enraizamento de estacas ocorrem algumas fases como desdiferenciação celular, aquisição de competência, determinação, diferenciação e crescimento radicular. A desdiferenciação é a capacidade de células diferenciadas entrarem em divisão celular e formarem um novo ponto meristemático de crescimento. A competência celular é a capacidade de células reagirem a sinais (que podem ser reguladores de crescimento) específicos de desenvolvimento. Essa capacidade da célula pode ocorrer por ativação (mudança na competência envolvendo a rediferenciação de determinadas células) e por indução (iniciação de uma resposta particular de diferenciação a partir da desdiferenciação celular). Já a determinação celular diz respeito a uma canalização progressiva no desenvolvimento, que, segundo CHRISTIANSON e WARNICK (1985), pode ser definida como o processo pelo qual o potencial de desenvolvimento de uma célula torna-se limitado a uma rota específica.

Muitos fatores podem afetar a rizogênese através da propagação de plantas por meio da estaquia, como genótipo, idade da planta-matriz, estágio de maturação do ramo, posição do ramo em que se extrai a estaca, modo de preparação da estaca, época do ano, horário do dia em que se coletam os ramos na planta-matriz, estado nutricional da planta-matriz e ambiente de enraizamento. Além desses fatores, a umidade, temperatura, luz, composição física e química do substrato e estresses ambientais constituem também condições importantes a serem observadas na rizogênese (KRAMER e KOZLOWSKI, 1972; HIGASHI et al., 2000; HARTMANN et al., 2002).

Os reguladores de crescimento mais conhecidos e de interesse na propagação de plantas são as auxinas, citocininas, giberilinas, ácido abscísico e o etileno. Em determinadas situações, a aplicação de algumas dessas substâncias pode promover ou inibir a iniciação de

raízes adventícias, dependendo da espécie, do clone, do estado de maturação, do tipo de material e da época do ano, entre outros fatores (HACKETT, 1987; HARTMANN et al., 2002; XAVIER, 2002).

As auxinas são substâncias envolvidas em várias atividades da planta, como formação de raízes adventícias, ativação das células cambiais, inibição de brotações laterais, visando à dominância apical e abscisão de folhas e frutos. Segundo THOMPSON (1992) e HARTMANN et al. (2002), as auxinas são de maior interesse no enraizamento de estacas, sendo sintetizadas principalmente em regiões de crescimento ativo como meristema apical, gemas axilares e folhas jovens, sendo translocadas para diferentes órgãos. As auxinas, normalmente, são consideradas as principais substâncias indutoras do enraizamento adventício. Em alguns casos, por exemplo, em leguminosas de ciclo curto, o etileno tem se mostrado o principal indutor do enraizamento adventício. Já as substâncias polifenólicas e o ácido abscísico são considerados inibidores do referido processo (TAIZ e ZEIGER, 2004).

São classificados como auxinas o ácido indolacético (AIA), o ácido indolbutírico (AIB), o ácido naftalenoacético (ANA), o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) e o ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T). Desse grupo, o AIA e o AIB ocorrem naturalmente nas plantas; já o ANA e o 2,4-D são produzidos sinteticamente. Alguns fisiologistas classificam as poliaminas, alguns complexos oligossacarídeos e o inositol trifosfato como sendo reguladores de crescimento de ocorrência natural nas plantas (HARTMANN et al., 2002).

Os monofenóis e, especialmente, os difenóis (como ácido cafeico, ácido clorogênico, ácido cumárico, catecol, fenilalanina, floroglucinol, hidroquinona, prolina e triptofano) atuam como cofatores de enraizamento, aumentando o espectro de ação das auxinas, ou seja, são substâncias sinérgicas das auxinas¹. Assim, o cofator auxilia o fator (auxina) na promoção do processo de enraizamento adventício.

Já o efeito de substâncias antioxidantes consiste na inativação dos radicais livres, na complexação de íons metabólicos ou na redução dos peróxidos para produtos incapazes de formar radicais livres com potencial de se oxidar (ARAÚJO, 1985). Dentre as substâncias com efeito antioxidante, podem-se citar o ácido ascórbico, ácido cítrico, polivinilpirrolidona (PVP), carvão ativado, L-cisteína, ditiotreitol, tiuréia, água de côco e albumina de soro bovino. Essas substâncias podem atuar de modo a inibir a síntese ou ação de enzimas ligadas à oxidação dos polifenóis ou agir como adsorventes destas substâncias (ARAÚJO, 1985; TAIZ e ZEIGER, 2004).

¹ Comunicação pessoal do Professor José Maria Moreira Dias (DFT/UFV).

O carvão ativado e o PVP são considerados compostos adsorventes, sendo que o primeiro age promovendo adsorção dos exsudatos liberados pelo explante, os quais provocam a oxidação; além de possuir as propriedades de adsorver e reduzir a disponibilidade de auxina exógena no meio de cultura, afetando negativamente o processo de rizogênese (TAIZ e ZEIGER, 2004). Já o PVP reage com os compostos oxidantes e, de acordo com CORDEIRO (2002), seu efeito principal no meio de cultura está relacionado com a capacidade de inibir a liberação de compostos fenólicos. Os ácidos cítrico e ascórbico reagem com os metais presentes no meio de cultura, evitando que fiquem disponíveis para se oxidarem (ARAÚJO, 1985; TAIZ e ZEIGER, 2004).

Diante da atual importância da propagação clonal de *Eucalyptus*, tem sido incentivado o desenvolvimento de pesquisas que busquem avaliar o efeito de reguladores de crescimento (AIB e ANA), cofatores (floroglucinol, ácido cafeico, ácido clorogênico, hidroquinona, fenilalanina, prolina e triptofano) e antioxidantes (PVP, ácido ascórbico e carvão ativado) no enraizamento de miniestacas de clones *Eucalyptus*, bem como os fundamentos biológicos da formação de raízes adventícias.

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivos avaliar a influência do acondicionamento, antioxidantes, auxinas e seus cofatores no enraizamento adventício e o padrão da rizogênese de miniestacas de quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

2. REFERÊNCIAS

- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (Eds.). **Anatomia vegetal**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2003. 438 p.
- ARAÚJO, J.M.A. **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa, MG: Editora UFV, 1985. 355 p.
- ASSIS, T. F. Melhoramento genético de eucalipto. **Informe Agropecuário**, v. 18, n. 185, p. 32-51, 1996.
- BONGA, J. M.; VON ADERKAS, P. **In vitro culture of trees**. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1992. 236 p.
- CAMPINHOS, E.; IKEMORI, Y. I. **Produção de propágulos vegetativos (por enraizamento de estacas) de *Eucalyptus* spp. em viveiro**. Aracruz, ES: Aracruz Florestal S.A., 1983. 16 p.

CHRISTIANSON, M. L.; WARNICK, D. A. Temporal requirement for phytohormone balance in the control of organogenesis *in vitro*. **Dev. Biol.** v. 112, p. 494-497, 1985.

COMÉRIO, J.; XAVIER, A.; IANNELLI, 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.

CORDEIRO, I. M. C. C. **Respostas morfogênicas *in vitro* de paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber, ex Ducke)**. Belém, PA: Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, 2002. 65 f. Dissertação (Mestrado).

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

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2002. 880 p.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. A.; GONÇALVES, A. N. **Propagação vegetativa de *Eucalyptus*: princípios básicos e a sua evolução no Brasil**. Piracicaba, SP: IPEF, 2000. 11 p. (Circular Técnica, 192).

KRAMER, P. J.; KOZLOWSKI, T. T. **Fisiologia das árvores**. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 1972. 745 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p. (Tradução).

THOMPSON, D. G. Current state-of-the-art of rooting cuttings and a view to the future. In: SYMPOSIUM IN IUFRO'S CENTENNIAL YEAR – MASS PRODUCTION TECHNOLOGY FOR GENETICALLY IMPROVED FAST GROWING FOREST TREE SPECIES, 1992, Bordeaux. **Syntheses...** Paris: AFOCEL, IUFRO, 1992. p. 159-172. (Colloque Afocel – IUFRO).

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

XAVIER, A.; COMÉRIO, J. Microestaquia: uma maximização da micropropagação de *Eucalyptus*. **Revista Árvore**, v. 20, n. 1, p. 09-16, 1996.

XAVIER, A. **Silvicultura clonal I: Princípios e técnicas de propagação vegetativa**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 64p. (Caderno Didático, 92).

**EFEITO DOS REGULADORES DE CRESCIMENTO AIB E ANA NO
ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE CLONES DE *Eucalyptus grandis* x
*Eucalyptus urophylla***

RESUMO – O presente estudo teve como objetivo avaliar a eficiência dos reguladores de crescimento AIB e ANA no enraizamento de miniestacas de quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. As miniestacas foram coletadas no minijardim clonal conduzido em sistema de hidroponia em canaletas. O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, em arranjo fatorial 2 x 5 x 4, constituído de dois reguladores de crescimento (AIB e ANA), cinco doses de AIB e ANA e quatro clones, em quatro repetições e parcelas compostas de 16 plantas/repetição. Foram realizadas avaliações em casa de vegetação, casa de sombra e pleno sol, quanto ao porcentual de sobrevivência, altura, diâmetro de colo e massa seca da parte aérea e radicular das miniestacas enraizadas. Conclui-se que a utilização do AIB nas doses entre 500 e 2.000 mg L⁻¹ mostrou-se mais eficiente do que o ANA para os quatro clones estudados.

Palavras-chave: Miniestaquia, estaquia, propagação vegetativa e silvicultura clonal.

**EFFECT OF THE GROWTH REGULATORS IBA AND ANA ON THE ROOTING
OF MINICUTTINGS OF *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* CLONES**

ABSTRACT – The objective of the present work was to evaluate the efficiency of the growth regulators IBA and ANA on the rooting of minicuttings of four clones of *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. The minicuttings were collected in a clonal minigarden carried on in a hydroponic system in small gutters. The experimental design used was of random plots, in a factorial arrangement 2 x 5 x 4, constituted of two growth regulators (IBA and ANA), five doses of each growth regulators and four clones, in four repetitions and plots of 16 plants per repetition. The evaluations were carried out in a greenhouse, a shade house and in the open sun for the survival rate, height, stem diameter and dry mass of the aerial and root parts of the rooted minicuttings. It was concluded that the use of IBA in doses between 500 and 2,000 mg L⁻¹ showed to be more efficient than the ANA for the four clones studied.

Keywords: Minicutting, stem-cutting rooting, vegetative propagation and clonal silviculture.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, notou-se grande evolução das pesquisas visando à maximização do enraizamento de estacas de clones de *Eucalyptus*, onde se perceberam avanços consideráveis nas técnicas de miniestaquia e microestaquia. No entanto, fundamentos biológicos da formação de raízes adventícias e o papel de substâncias promotoras e cofatores no processo de enraizamento têm atraído não apenas a atenção dos pesquisadores, sendo também de interesse das empresas florestais no processo de produção comercial de plantas clonais.

A habilidade de enraizamento difere consideravelmente entre as espécies florestais, podendo ser classificadas em espécies de fácil propagação, espécies com respostas crescentes ao enraizamento, quando são proporcionadas condições adequadas de controle ambiental e manejo da fonte de propágulo vegetativo; e aquelas espécies com resposta pequena ou nenhuma aos estímulos para enraizamento (XAVIER, 2002). Para o gênero *Eucalyptus* e entre os clones de uma mesma espécie, várias mudanças podem ser observadas, quanto ao percentual de enraizamento, podendo variar de 0 a 100%, conforme resultados observados na literatura (HIGASHI et al., 2000).

De forma geral, ao longo do desenvolvimento as plantas lenhosas sofrem modificações morfológicas e fisiológicas ao se mudarem da fase juvenil para a adulta. Sabe-se que a capacidade de enraizamento em muitas espécies diminui à medida que a planta expressa características de maturação. Entre os principais fatores que afetam a propagação vegetativa pelo enraizamento de estacas estão aqueles relacionados com o genótipo, com as condições fisiológicas da planta fornecedora das estacas, com o tipo de estaca, com a nutrição mineral (vigor vegetativo da planta-matriz e “status” nutricional do material coletado), com o tratamento das estacas (armazenamento, aplicação de reguladores de crescimento, antioxidantes e cofatores) e com a manipulação das condições ambientais, quanto à luminosidade, umidade, temperatura e substrato (GREENWOOD et al., 1993; HARTMANN et al., 2002; TAIZ e ZEIGER, 2004).

As condições fisiológicas da planta doadora de propágulos dependem de um conjunto de fatores intrínsecos que poderão ou não estar atuando no metabolismo da planta, na ocasião da coleta de estacas (NORBERTO, 1999). Esses fatores influenciarão a rizogênese das referidas estacas. A formação de raízes adventícias é dependente da presença de certos níveis endógenos de substâncias de crescimento da planta, sendo algumas mais favoráveis que outras. Dependendo da espécie e do estado de maturação, entre outros fatores, como

mencionado anteriormente, várias substâncias, quando aplicadas no propágulo, promovem ou inibem a iniciação de raízes adventícias.

Dentre os reguladores de crescimento mais conhecidos e de interesse na propagação vegetativa de plantas, destacam-se as auxinas. Segundo TAIZ e ZEIGER (2004), a resposta da planta à auxina endógena ou aplicada pode variar com a natureza do tecido e com a concentração desse regulador de crescimento já presente no propágulo. Aplicada em órgãos isolados, a auxina, dependendo de sua concentração, pode aumentar a resposta rizogênica até certo ponto, após o qual ocorre efeito inibitório.

Com relação à aplicação de ácido indolbutírico (AIB), WENDLING (1999) e WENDLING et al. (2000b) verificaram para *Eucalyptus* que os melhores índices de enraizamento de miniestacas foram obtidos com doses de AIB variando de 1.000 mg L⁻¹ a 3.000 mg L⁻¹. Também, TITON (2001) observou aumento nos índices de enraizamento e sobrevivência das miniestacas com maior eficiência nas doses entre 1.000 e 2.000 mg L⁻¹, na maioria dos clones de *Eucalyptus* estudados.

WENDLING (2002), trabalhando com clones de *Eucalyptus grandis*, verificou, entretanto, que a aplicação de AIB não resultou em aumento no enraizamento e sobrevivência das miniestacas, sendo observada influência negativa das doses acima de 500 mg L⁻¹ em alguns clones e algumas características estudadas. Alguns autores constataram que materiais juvenis, no entanto, não necessitam da aplicação de AIB para incrementar o enraizamento (ASSIS et al., 1992; COMÉRIO et al., 1996; XAVIER e COMÉRIO, 1996).

A utilização de AIB em miniestacas de essências nativas pode ser observada nos estudos de SANTOS (2002). Esse autor, ao trabalhar com cedro-rosa (*Cedrela fissilis*) e mogno (*Swietenia macrophylla* King.), verificou que a não-aplicação do AIB proporcionou melhores resultados de sobrevivência aos 120 dias de idade das plantas. Já, ao trabalhar com angico-vermelho (*Anadenanthera macrocarpa*), os melhores percentuais de enraizamento das miniestacas foram encontrados, utilizando a dose de 2.000 mg L⁻¹ de AIB. Pouco se conhece sobre a aplicação do ácido naftalenoacético (ANA) em miniestacas de essências florestais. Apenas SANTOS (2002), trabalhando com jequitibá-rosa (*Cariniana estrellensis*), mencionou que os melhores resultados de enraizamento foram obtidos utilizando 4.000 mg L⁻¹ de ANA, aos 90 dias de idade.

Dessa forma, dada a atual importância da propagação clonal de *Eucalyptus*, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito dos reguladores de crescimento AIB e ANA no enraizamento adventício de miniestacas de quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material experimental

Foram utilizados quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* provenientes da empresa International Paper do Brasil, localizada no Município de Mogi Guaçu, São Paulo. O clima dessa região é do tipo Cwa (tropical, úmido e mesotérmico), segundo a classificação de Köeppen, com latitude de 22°21'S, longitude de 48°58'W e altitude média de 639 m. Apresenta precipitação média anual de 1.317 mm e temperatura média anual de 21 °C, com máxima média de 24 °C e mínima média de 16 °C.

Para a seleção desses clones foram considerados os percentuais de área plantada e de enraizamento desses materiais genéticos, dados esses fornecidos pelo Departamento de Pesquisa da referida empresa.

A partir de plantas obtidas pela técnica de miniestaquia, o minijardim clonal foi instalado no Viveiro Experimental da International Paper do Brasil, localizado em condições cobertas, constituído pelos quatro clones em estudo (H1, H2, H3 e H4).

2.2. Manejo do minijardim clonal

Conforme a técnica de miniestaquia (XAVIER e WENDLING, 1998; HIGASHI et al., 2000 e ASSIS et al., 2004) e de acordo com os procedimentos de manejo adotados pela empresa, o minijardim clonal foi constituído de minicepas, obtidas pelo enraizamento de miniestacas oriundas de brotações de plantas propagadas pelo método da microestaquia. 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 miniestacas (brotações) para realização do experimento.

O sistema de manejo do minijardim clonal adotado foi o utilizado comercialmente pela empresa e composto por canaletas de alumínio revestidas com fibra de vidro, sobre as quais permaneceram as minicepas, plantadas em tubetes dispostos em bandejas de isopor cobertas por plástico dupla fase. A irrigação e a nutrição mineral foram efetuadas através do sistema automatizado de fertirrigação por inundação, de maneira que somente o sistema radicular permanecia em contato com a solução nutritiva. A cada uma hora o sistema era acionado, irrigando por um período de 20 minutos e atingindo cerca de 6 cm de altura do tubete. Após

esse período, a canaleta era esvaziada e a solução nutritiva retornava à caixa de armazenagem da solução, sendo esta trocada a cada sete dias.

Diariamente eram mensurados a Ec (condutividade elétrica, usada para medir a quantidade de sais presentes na solução) e o pH da solução. Nesse período, a Ec variou de 2,00 a 2,40 mS cm⁻¹ e o pH, de 3,05 a 5,76. Em 500 litros de solução nutritiva, adicionaram-se 20 g de nitrato de amônio, 200 g de nitrato de cálcio, 108 g de sulfato de amônio, 60 g de micronutrientes obtidos pelo produto Quelatec AZ[®] e 740 g de Phytus Super K[®]. O Quelatec AZ[®] constitui-se de um quelato solúvel de micronutrientes composto por ferro, manganês, zinco e cobre na forma quelatada e por boro e molibdênio na forma mineral. Já o Phytus Super K[®] foi constituído de um fertilizante composto por NPK (00:40:20).

2.3. Obtenção, preparo, plantio e enraizamento das miniestacas

As miniestacas foram coletadas no minijardim clonal e acondicionadas em caixas de PVC transparente, mantidas fechadas. Para manter as condições de turgescência do material vegetativo, pulverizou-se água utilizando uma bomba costal, em intervalos de 10 minutos, até a etapa de enraizamento, quando, então as miniestacas foram preparadas com dimensões variando de 5 a 7 cm de comprimento e com um par de folhas, tendo a área foliar sido reduzida à metade de sua dimensão original.

Após o preparo das miniestacas, estas foram tratadas com os reguladores de crescimento AIB e ANA para, posteriormente, serem plantadas e colocadas para enraizamento na casa de vegetação climatizada. Foram utilizados os reguladores de crescimento AIB (ácido indolbutírico – Merck S.A.) e ANA (ácido naftalenoacético – Merck S.A.) em cinco concentrações (0, 500, 1.000, 2.000 e 4.000 mg L⁻¹), na formulação líquida, dissolvidos em hidróxido de potássio (KOH) a 1 mol L⁻¹ e diluídos em água destilada autoclavada. As miniestacas tiveram suas bases (2 cm) mergulhadas na solução de regulador de crescimento por um período de 15 segundos, antes de serem plantadas no substrato.

O período compreendido entre o preparo das miniestacas, seus tratamentos com reguladores de crescimento e plantio no substrato, na casa de vegetação, foi sempre inferior a 30 minutos.

No enraizamento das miniestacas, utilizaram-se como recipientes tubetes plásticos de 55 cm³ de capacidade, contendo substrato constituído de partes iguais de vermiculita de granulometria fina e casca de arroz carbonizada. A nutrição mineral utilizada no substrato foi composta por 4,00 kg m⁻³ de Fosmag 500B (MANAH, São Paulo) composto por 4% de N,

14% de P, 7% de K, 14% de Ca, 9% de S, 2% de Mg e 0,5% de B; 5,40 kg m⁻³ de NPK (32:00:03) e 3,06 kg m⁻³ de cloreto de potássio.

O processo de enraizamento das miniestacas foi conduzido em casa de vegetação climatizada (umidade relativa do ar \geq 80% e temperatura em torno de 27 °C) com permanência de 25 dias. Posteriormente, as miniestacas foram transferidas para casa de sombra (permanência de 10 dias para aclimatização) e, finalmente, a pleno sol até completarem 50 dias de idade.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2 x 5 x 4, constituído de dois reguladores de crescimento (AIB e ANA), cinco doses de AIB e ANA e quatro clones (H1, H2, H3 e H4), em quatro repetições e parcelas compostas de 16 plantas/repetição.

2.4. Avaliações experimentais

As avaliações das plantas foram realizadas quanto ao percentual de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (aos 25 dias de idade), percentual de enraizamento e altura das miniestacas na saída da casa de sombra (aos 35 dias de idade). E aos 50 dias de idade a pleno sol avaliaram-se o percentual de sobrevivência, a altura, o diâmetro de colo e a massa da matéria seca da parte aérea e da raiz das miniestacas enraizadas.

As avaliações de altura, diâmetro de colo, massa da matéria seca da parte aérea e do sistema radicular foram realizadas em quatro miniestacas/repetição selecionadas ao acaso em cada tratamento.

Os dados resultantes foram submetidos às análises de variância e regressão, utilizando-se os programas Statistica e Excel.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos resultados da análise de variância das características avaliadas (Quadro 1), observou-se efeito significativo, pelo teste F ($P < 0,05$), das interações “clone x regulador de crescimento x tratamento”, “clone x regulador de crescimento” e “clone x tratamento” sobre algumas características avaliadas, indicando respostas diferenciadas dos clones aos reguladores de crescimento e aos tratamentos adotados. Não houve diferença estatística ($P > 0,05$) na interação “tratamento x regulador de crescimento”, em todas as características estudadas.

Quadro 1 - Resultados da análise de variância das características de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (SOBCV); do percentual de enraizamento (ENRCS) e altura (ALTCS) das miniestacas na saída da casa de sombra; e da sobrevivência (SOB50), altura (ALT50), diâmetro de colo (DC50) e da massa de matéria seca da parte aérea (PSPA) e do sistema radicular (PSR) das plantas aos 50 dias de idade, em função das concentrações dos reguladores de crescimento AIB e ANA, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios							
		SOBCV (%)	ENRCS (%)	ALTCS (cm)	SOB50 (%)	ALT50 (cm)	DC50 (mm)	PSPA (g)	PSR (g)
Clone (C)	3	2763,26*	3269,12*	228,97*	6257,41*	561,41*	1,82*	261,75*	134,95*
Reg. Cres.(R)	1	19,78 ^{ns}	6,10 ^{ns}	34,89*	1373,29*	27,47*	1,23*	1,62 ^{ns}	0,19 ^{ns}
Trat. (T)	4	3682,50*	4491,58*	14,17 ^{ns}	5060,00*	10,04 ^{ns}	0,13 ^{ns}	7,96 ^{ns}	1,55 ^{ns}
C*R	3	112,22 ^{ns}	85,54 ^{ns}	8,28*	967,04*	12,78*	1,48*	0,31 ^{ns}	0,16 ^{ns}
C*T	12	1028,04*	1185,59*	8,89*	1183,75*	14,34*	0,20*	6,00 ^{ns}	1,27 ^{ns}
T*R	4	88,75 ^{ns}	60,42 ^{ns}	4,13 ^{ns}	145,26 ^{ns}	7,85 ^{ns}	0,05 ^{ns}	1,54 ^{ns}	0,49 ^{ns}
C*R*T	12	422,89*	338,42*	2,99 ^{ns}	487,71*	4,90 ^{ns}	0,05 ^{ns}	1,60 ^{ns}	0,87 ^{ns}
Resíduo	120	101,39	100,34	1,67	105,88	3,39	0,10	24,69	11,97
Média Geral	-	87,9	85,7	10,5	78,9	13,9	1,2	6,9	4,0
CV _{exp} (%)	-	20,8	22,4	25,7	24,8	24,4	20,0	25,9	25,7

^{ns} e * = não-significativo e significativo, respectivamente, a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Quanto aos coeficientes de variação experimental encontrados, estes variaram de 20,0 até 25,9%, evidenciando-se razoável precisão experimental em relação às características estudadas, de acordo com os valores encontrados na literatura (RIBAS, 1997; WENDLING et al., 2000a; TITON, 2001).

3.1. Sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação

A sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação, apresentada na Figura 1, indica que, no clone H1, os melhores resultados foram obtidos entre as doses de 500 e 1.000 mg L⁻¹ de AIB, e no clone H3 os melhores resultados foram obtidos até a dose de 500 mg L⁻¹ de AIB. No clone H2, a utilização de AIB demonstrou fitotoxidez para a sobrevivência das miniestacas, mesmo com as menores doses aplicadas. Já no clone H4 a utilização do AIB não influenciou a sobrevivência das miniestacas.

De acordo HARTMANN et al. (2002), a aplicação de auxinas em estacas, ao aumentar sua concentração, produz efeito estimulador na indução de raízes até um ponto máximo, a partir do qual qualquer acréscimo do nível de auxina se torna inibitório.

Quanto ao regulador de crescimento ANA (Figura 1), observa-se que nos clones H1 e H4 os melhores resultados de sobrevivência na saída da casa de vegetação foram obtidos até a

dose de 500 mg L⁻¹ de ANA e nos clones H2 e H3, nas doses entre 500 e 1.000 mg L⁻¹ de ANA. De maneira geral, em todos os clones doses superiores a 1.000 mg L⁻¹ de ANA acarretaram decréscimo na sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação, mas proeminente nos clones H2 e H4, que demonstraram fitotoxidez para a sobrevivência das miniestacas.

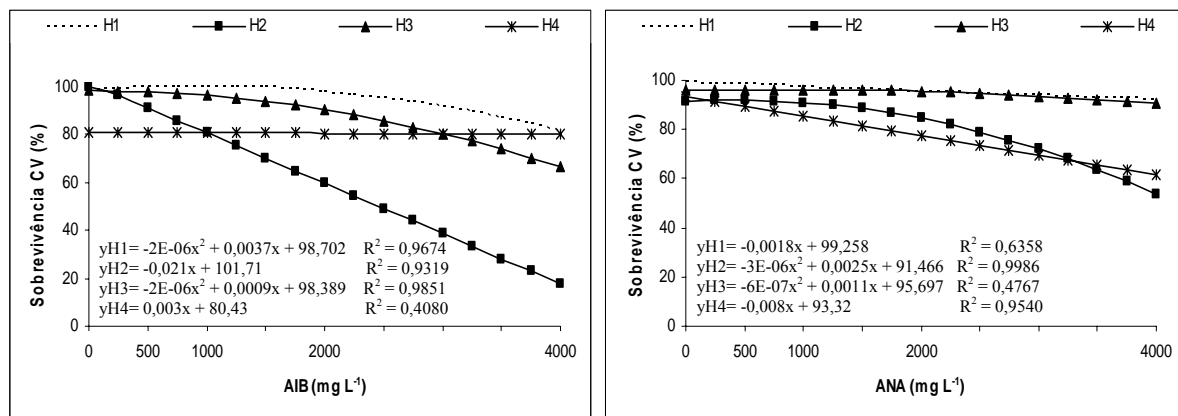


Figura 1 - Sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação, aos 25 dias de idade, em função da aplicação dos reguladores de crescimento AIB e ANA, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Esses resultados estão de acordo com aqueles obtidos por WENDLING (1999) e TITON (2001) para miniestaquia de *Eucalyptus* spp. Conforme Iritani et al. (1983), citados por TITON (2001), a avaliação da sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação não é garantia de êxito no seu enraizamento, porém é forte indicador de controle das condições ambientais (temperatura e umidade) da casa de vegetação.

3.2. Enraizamento e altura das miniestacas na saída da casa de sombra

Ao analisar os resultados de enraizamento das miniestacas na saída da casa de sombra aos 35 dias de idade (Figura 2), notou-se em todos os clones resultados semelhantes aos encontrados na saída da casa de vegetação (Figura 1), tanto utilizando AIB quanto ANA; não verificaram diferenças estatísticas entre os reguladores de crescimento quanto ao enraizamento na saída da casa de sombra.

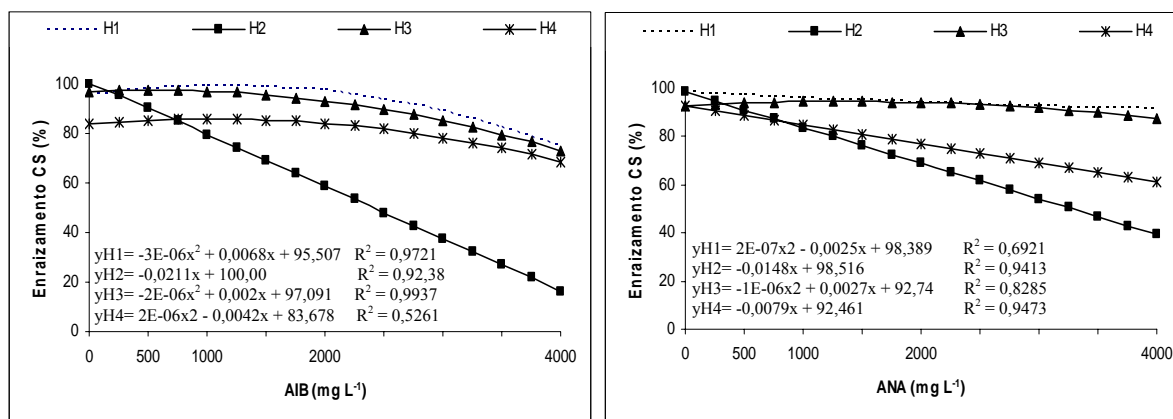


Figura 2 - Enraizamento das miniestacas na saída da casa de sombra, aos 35 dias de idade, em função da aplicação dos reguladores de crescimento AIB e ANA dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Observou-se no clone H1 efeito positivo da aplicação de AIB e ANA no enraizamento de miniestacas com maiores valores entre as doses de 1.000 a 2.000 mg L⁻¹ de AIB e até 500 mg L⁻¹ de ANA. O clone H2 apresentou decréscimos acentuados nos percentuais de enraizamento mesmo nas menores doses aplicadas de AIB e ANA, demonstrando maior sensibilidade ao uso desses reguladores de crescimento.

O enraizamento das miniestacas em resposta à aplicação de 0 a 1.000 mg L⁻¹ de AIB apresentou-se pouco diferenciado no clone H3, ocorrendo decréscimos a partir dessa dosagem. Com o uso de ANA, os melhores resultados no clone H3 foram de 1.000 a 2.000 mg L⁻¹ de ANA.

O clone H4 apresentou comportamento semelhante ao do H3 utilizando AIB, porém o H4 exibiu decréscimos acentuados nos percentuais de enraizamento a partir da dose de 2.000 mg L⁻¹ de AIB. Já quanto à utilização do ANA, o comportamento do clone H4 foi semelhante ao H2, apresentando, mesmo nas menores doses aplicadas de ANA, sensibilidade ao uso desse regulador de crescimento.

Durante o tempo de permanência na casa de sombra, observou-se mortalidade somente das miniestacas que apresentavam sistema radicular muito pouco desenvolvido ou que não possuíam raiz alguma na saída da casa de vegetação (aos 25 dias de idade), não sendo verificado mortalidade causada por outros fatores.

Resultados semelhantes a esses foram obtidos em outras espécies de *Eucalyptus*, observando-se elevados índices de enraizamento ao utilizar a técnica da miniestaquia (ASSIS et al., 1992; XAVIER e COMÉRIO, 1996; WENDLING et al., 2000a; TITON, 2001).

Com relação às médias da altura das miniestacas aos 35 dias de idade, em função dos tratamentos não houve efeito significativo (Quadro 1). O clone H1, dentre todos, foi o que

apresentou maior altura de planta, nas doses entre 1.000 e 2.000 mg L⁻¹ de AIB e de 0 a 500 mg L⁻¹ de ANA. Nos clones H2, H3 e H4, os resultados de médias da altura das miniestacas foram semelhantes tanto utilizando AIB quanto ANA, sendo no clone H2 os melhores resultados obtidos com a não-aplicação dos reguladores de crescimento.

3.3. Sobrevivência, altura, diâmetro de colo e matéria seca das miniestacas enraizadas

Com relação à sobrevivência das plantas a pleno sol aos 50 dias de idade (Figura 3), o comportamento apresentado pelos clones, ao utilizar o AIB, foi semelhante ao enraizamento na saída da casa de sombra (Figura 2). No entanto, ao se utilizar o ANA, houve maiores variações entre as doses e decréscimos mais acentuados nos percentuais de sobrevivência das plantas a pleno sol.

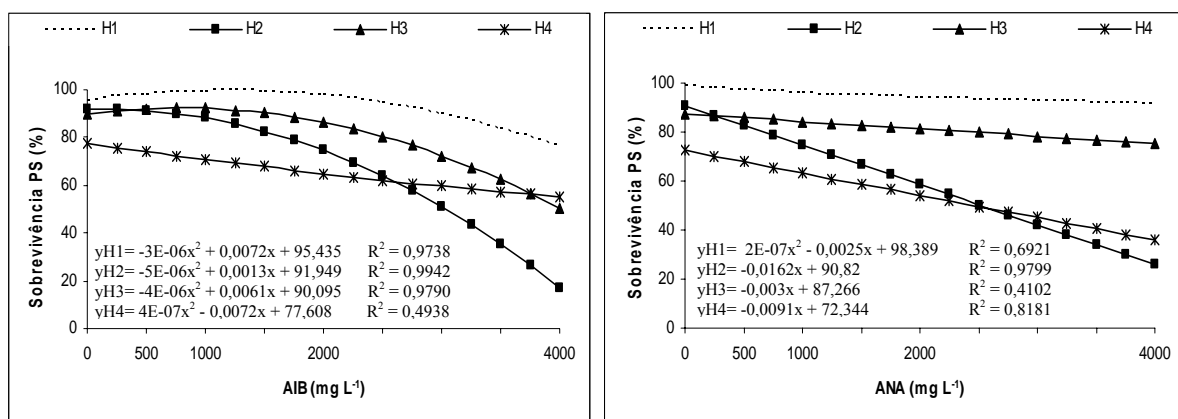


Figura 3 - Sobrevivência das miniestacas a pleno sol, aos 50 dias de idade, em função da aplicação dos reguladores de crescimento AIB e ANA dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Os clones H1, H2 e H3 apresentaram boa capacidade de enraizamento adventício. Ao analisar a sobrevivência das miniestacas a pleno sol, os melhores resultados, ao se aplicar AIB, foram obtidos entre as doses de 500 e 2.000 mg L⁻¹ de AIB no clone H1; de 0 a 500 mg L⁻¹ de AIB no clone H2 e de 500 a 1.000 mg L⁻¹ de AIB no H3.

O clone H4 apresentou decréscimo na sobrevivência das miniestacas a pleno sol quando foram aplicados AIB e ANA. Quanto se utilizou o ANA, os clones H1, H2 e H3 exibiram comportamento semelhante ao do H4, porém com maiores índices de sobrevivência de miniestacas a pleno sol.

A hipótese era de que a aplicação de AIB e, ou, ANA promovesse aumento nos índices de enraizamento e sobrevivência nas miniestacas, o que se confirmou na maioria

clones estudados, quando foram aplicadas doses acima de 500 mg L⁻¹ de AIB. De certa forma, esses resultados concordam com os obtidos por WENDLING et al. (2000b) utilizando miniestacas de *Eucalyptus* spp., os quais verificaram aumento nos índices de enraizamento e sobrevivência com aplicação de doses entre 0 e 2.000 mg L⁻¹ de AIB.

A diversidade de respostas dos clones, em relação à utilização de AIB e ANA pode estar associada, principalmente, às diferenças genotípicas e às condições de maturação do material (CHUNG e LEE, 1994; WILSON, 1994; KAMLESH et al., 1995).

Tanto utilizando AIB quanto ANA, os clones estudados apresentaram crescimento em altura e em diâmetro de colo das miniestacas a pleno sol diferenciado entre eles. No entanto, dentro de cada clone não foram observadas diferenças estatísticas entre as doses desses reguladores de crescimento.

Os resultados de peso de matéria seca da parte aérea foram semelhantes aos de peso de matéria seca do sistema radicular das plantas a pleno sol. A aplicação de AIB e ANA não surtiu efeito significativo nos tratamentos de todos os clones.

4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados e as condições em que foi realizado o experimento, conclui-se que:

- Os clones estudados responderam mais eficientemente às aplicações de AIB do que às de ANA, quanto às características avaliadas.
- Doses acima de 500 mg L⁻¹ de AIB foram mais eficientes nos quatro clones estudados, no entanto, a partir de 2.000 mg L⁻¹ de AIB, notaram-se certos níveis de toxidez em alguns clones.

5. REFERÊNCIAS

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

ASSIS, T.; FETT-NETO, A.G.; ALFENAS, A.C. Current techniques and prospects for the clonal propagation of hardwoods with emphasis on *Eucalyptus*. In: Walters C, Carson M (Eds.). **Plantation Forest Biotechnology for the 21st Century**, Research Signpost, India, 2004. p. 303-333.

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.

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.

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.

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.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2002. 880 p.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. A.; GONÇALVES, A. N. Evolução do jardim clonal de eucalipto para a produção de mudas. **IPEF Notícias**, v. 24, n. 148, p. 04-06, 2000.

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)

LIMA, C. C. M. **Uso de aditivos e cofatores na rizogênese de plântulas de *Eucalyptus grandis* Hill in vitro**. Piracicaba, SP: ESALQ/USP, 1998, 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais).

NORBERTO, P. M. **Efeitos da época de poda, cianamida hidrogenada, irrigação e ácido indolbutírico na colheita antecipada e enraizamento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.)**. Lavras, MG: UFLA, 1999. 89 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia).

RIBAS, K. C. **Interações entre auxina e cofatores do enraizamento na promoção do sistema radicular em estacas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden**. Botucatu, SP: UNESP, 1997. 150 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas).

SANTOS, G. A. **Propagação vegetativa de mogno, cedro-rosa, jequitibá-rosa e angico-vermelho por miniestaquia**. Viçosa, MG: UFV, 2002. 75 f. Monografia de Graduação.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p. (Tradução).

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

WENDLING, I. **Propagação clonal de híbridos de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia**. Viçosa, MG: UFV, 1999. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal).

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.

WENDLING, I. **Rejuvenescimento de clones de *Eucalyptus grandis* por miniestaquia seriada e micropropagação**. Viçosa, MG: UFV, 2002. 98 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal).

WILSON, P. J. Contributions of the leaves and auxillary shoots to rooting in *Eucalyptus grandis* Hil a Maid. stem cuttings. **Journal of Horticultural Science**, v. 69, n. 6, p. 999-1007, 1994.

XAVIER, A.; COMÉRIO, J. Microestaquia: uma maximização da micropropagação de *Eucalyptus*. **Revista Árvore**, v. 20, n. 1, p. 09-16, 1996.

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

XAVIER, A. **Silvicultura clonal I: Princípios e técnicas de propagação vegetativa**. Viçosa, MG: UFV, 2002. 64 p. (Caderno Didático, 92).

EFEITO DE COFADORES NO ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE CLONES DE *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*

RESUMO – O presente estudo teve como objetivo avaliar a eficiência dos cofatores ácido cafeico, ácido clorogênico, fenilalanina, floroglucinol, hidroquinona, prolina e triptofano associados com o regulador de crescimento AIB no enraizamento de miniestacas de quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. As miniestacas foram coletadas no minijardim clonal conduzido em sistema de hidroponia em canaletas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, constituído de quatro doses para cada cofator e quatro clones, em quatro repetições e parcelas compostas de 16 plantas/repetição. Foram realizadas avaliações na casa de vegetação, casa de sombra e a pleno sol nas miniestacas enraizadas. Conclui-se que o ácido clorogênico e a hidroquinona melhoraram os índices de enraizamento e de sobrevivência em três clones; a fenilalanina e o floroglucinol melhoraram os referidos índices em dois clones; somente o ácido cafeico, o triptofano e, principalmente, a prolina melhoraram essas respostas em todos os clones estudados.

Palavras-chave: Miniestaquia, estaquia, propagação vegetativa e silvicultura clonal.

EFFECT OF COFACTORS ON THE ROOTING OF MINICUTTINGS OF *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* CLONES

ABSTRACT – The objective of the present work was to evaluate the efficiency of the cofactors caffeic acid, chlorogenic acid, phenylalanine, phloroglucinol, hydroquinone, proline and tryptophane associated with the growth regulator IBA on the rooting of minicuttings of four clones of *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. The minicuttings were collected in a clonal minigarden carried on in a hydroponic system in small gutters. The experimental design used was of random plots, constituted by four doses of each cofactor and four clones, in four repetitions and plots of 16 plants per repetition. The evaluations of the rooted minicuttings were carried out in a greenhouse, a shade house and in the open sun. It was concluded that the chlorogenic acid and the hydroquinone improved the rooting and the survival indexes for three clones; the phenylalanine and phloroglucinol improved these indexes for two clones; only the caffeic acid, the tryptophane, and, mainly, the proline improved the responses for all of the clones studied.

Keywords: Minicutting, stem-cutting rooting, vegetative propagation and clonal silviculture.

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a propagação vegetativa de *Eucalyptus* passou por várias modificações, tendo início com a técnica da estaquia implementada em escala comercial no final de 1970 (IKEMORI, 1975), sendo atualmente a técnica da miniestaquia adotada na maioria das médias e grandes empresas florestais brasileiras. Desde o início da sua implementação, os reguladores de crescimento, principalmente as auxinas, sempre estiveram presentes nos trabalhos de propagação, uma vez que proporcionam maior porcentagem, velocidade, qualidade e uniformidade de enraizamento (HARTMANN et al., 2002), embora a sensibilidade das células vegetais (LOPES e BARBOSA, 1988) e dos clones (LAINE e DAVID, 1994) seja variável.

As condições fisiológicas da planta doadora de propágulos dependem de um conjunto de fatores intrínsecos que poderá, ou não, estar atuando no metabolismo da planta na ocasião da coleta de estacas (HACKETT, 1987, NORBERTO, 1999). Cada vez mais, acredita-se que existem fatores endógenos, além das auxinas, controlando o processo de enraizamento adventício. A presença de carboidratos, proteínas, aminoácidos, vitaminas, compostos fenólicos e outras substâncias ainda não identificadas contribuem, além das auxinas, para a iniciação de raízes adventícias, quando combinados em concentrações e proporções adequadas (ONO e RODRIGUES, 1996).

As auxinas, citocininas, giberelinas, etileno, ácido abscísico, poliaminas, vitaminas e fenóis, entre outros, influenciam, direta ou indiretamente, o enraizamento adventício. Porém, as auxinas têm apresentado maiores e mais diretos efeitos no curso desse processo, sendo que na propagação de *Eucalyptus* por estaquia o regulador de crescimento de maior uso tem sido o AIB.

Os monofenóis e, especialmente, os difenóis (como ácido cafeico, ácido clorogênico, ácido cumárico, catecol, fenilalanina, floroglucinol, hidroquinona, prolina e triptofano) atuam sinergicamente como cofatores de enraizamento. Wilson e Van Staden (1990), citados por LIMA (1998), acreditavam que o floroglucinol, usado em combinação com auxinas, provavelmente aumentaria o índice de enraizamento e o número de brotações pela influência no metabolismo de auxina ou, alternativamente, pela manutenção do potencial redox do tecido em seu estado reduzido. CABONI et al. (1992), ao trabalharem com estacas de macieira M9 Jork, obtiveram melhores resultados com a adição de floroglucinol, durante a fase de enraizamento. Esse composto químico mostrou efeito sinérgico com o AIB e aumentou a porcentagem de enraizamento, tanto no escuro quando na presença de luz. Já

quando utilizado em doses mais altas, o efeito foi inibitório. Esses mesmos autores relataram que certos efeitos positivos do floroglucinol e de outros fenóis, na ausência de auxinas exógenas, sejam devidos, provavelmente, ao aumento no nível de auxina endógena, ocasionado pela presença desses fenóis.

Tanto o catecol, quanto o ácido clorogênico agem como cofatores para aumentar o enraizamento, na presença de AIA (HESS, 1962; CHALLENGER et al., 1965). HESS (1962) observou que o catecol aplicado em associação com auxina apresentou grande efeito estimulador, aumentando o índice de enraizamento em estacas de feijoeiro (*Phaseolus aureus*). CABONI et al. (1992), trabalhando com estacas de macieira M9 Jork, observaram que o catecol e o ácido clorogênico (sem a presença de AIB) estimularam algum enraizamento em estacas. Suas utilizações, em associação com a auxina, tiveram efeito inibitório no crescimento das raízes, indicando que esses fenóis não têm efeito sinérgico com o AIB.

A prolina aumentou a porcentagem de brotos enraizados e o número de raízes por broto em *Prunus avium* e *P. cerasus* (Duart, 1986, citado por LIMA, 1998). Geralmente, a prolina é utilizada em meios de cultura para indução de embriões somáticos, associada ou não a diferentes combinações de auxinas, conforme o trabalho de Kim et al. (1994), citados por LIMA (1998), com *Quercus acutissima*.

A fenilalanina é geralmente utilizada em meios de cultura para estimular o crescimento de calo. Segundo MARZIAH et al. (1993), a adição de fenilalanina ao meio, para indução de calo de cacaueteiro, aumentou levemente os níveis totais de fenóis.

O triptofano é comum em plantas como constituinte de proteínas e precursor intermediário da biossíntese de várias substâncias indólicas, entre elas o ácido indolacético (HAGGQUIST et al., 1988). Segundo alguns autores (Gordon et al., 1961; Schneider et al., 1974; Shingh, 1981, citados por DUTRA et al., 2002), os fenóis, em condição de oxidação, reagem com o triptofano para formar a auxina (AIA).

Diante da atual importância da propagação clonal de *Eucalyptus*, torna-se justificável o desenvolvimento de pesquisas que busquem avaliar o efeito de cofatores no enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito dos cofatores ácido cafeico, ácido clorogênico, fenilalanina, floroglucinol, hidroquinona, prolina e triptofano, associados com regulador de crescimento AIB, no enraizamento adventício de miniestacas de quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material experimental

Foram utilizados quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* provenientes da empresa International Paper do Brasil, localizada no Município de Mogi Guaçu, São Paulo. O clima dessa região é do tipo Cwa (tropical, úmido e mesotérmico), segundo a classificação de Köeppen, com latitude de 22°21'S, longitude de 48°58'W e altitude média de 639 m. Apresenta precipitação média anual de 1.317 mm e temperatura média anual de 21 °C, com máxima média de 24 °C e mínima média de 16 °C.

Para a seleção desses clones foram considerados os percentuais de área plantada e de enraizamento desses materiais genéticos, dados esses fornecidos pelo Departamento de Pesquisa da referida empresa.

A partir de plantas obtidas pela técnica de miniestaquia, o minijardim clonal foi instalado no Viveiro Experimental da International Paper do Brasil, localizado em condições cobertas, constituído pelos quatro clones em estudo (H1, H2, H3 e H4).

2.2. Manejo do minijardim clonal

Conforme a técnica de miniestaquia (XAVIER e WENDLING, 1998; HIGASHI et al., 2000 e ASSIS et al., 2004) e de acordo com os procedimentos de manejo adotados pela empresa, o minijardim clonal foi constituído de minicepas, obtidas pelo enraizamento de miniestacas oriundas de brotações de plantas propagadas pelo método da microestaquia. 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 miniestacas (brotações) para realização do experimento.

O sistema de manejo do minijardim clonal adotado foi o utilizado comercialmente pela empresa e composto por canaletas de alumínio revestidas com fibra de vidro, sobre as quais permaneceram as minicepas, plantadas em tubetes dispostos em bandejas de isopor cobertas por plástico dupla fase. A irrigação e a nutrição mineral foram efetuadas através do sistema automatizado de fertirrigação por inundação, de maneira que somente o sistema radicular permanecia em contato com a solução nutritiva. A cada uma hora o sistema era acionado, irrigando por um período de 20 minutos e atingindo cerca de 6 cm de altura do tubete. Após esse período, a canaleta era esvaziada e a solução nutritiva retornava à caixa de armazenagem

da solução, sendo esta trocada a cada sete dias; diariamente, eram mensurados a Ec (condutividade elétrica, usada para medir a quantidade de sais presentes em solução) e o pH da solução. Nesse período, a Ec variou de 2,00 a 2,40 mS cm⁻¹ e o pH, de 3,05 a 5,76. Em 500 litros de solução nutritiva, adicionaram-se 20 g de nitrato de amônio, 200 g de nitrato de cálcio, 108 g de sulfato de amônio, 60 g de micronutrientes obtidos pelo produto Quelatec AZ[®] e 740 g de Phytus Super K[®]. O Quelatec AZ[®] constitui-se de um quelato solúvel de micronutrientes, composto por ferro, manganês, zinco e cobre na forma quelatada e por boro e molibdênio na forma mineral. Já o Phytus Super K[®] foi constituído de um fertilizante composto por NPK (00:40:20).

2.3. Obtenção, preparo, plantio e enraizamento das miniestacas

As miniestacas foram coletadas no minijardim clonal e acondicionadas em caixas de PVC transparente, mantidas fechadas. Para manter as condições de turgescência do material vegetativo, pulverizou-se água, utilizando uma bomba costal, em intervalos de 10 minutos, até a etapa de enraizamento, quando, então, as miniestacas foram preparadas com dimensões variando de 5 a 7 cm de comprimento e com um par de folhas, tendo a área foliar sido reduzida à metade de sua dimensão original.

Após o preparo das miniestacas, estas foram tratadas com ácido cafeico, ácido clorogênico, fenilalanina, floroglucinol, hidroquinona, prolina e triptofano associados com a dose de 500 mg L⁻¹ de AIB (ácido indolbutírico – Merck S.A.), para posteriormente serem plantadas e colocadas para enraizamento na casa de vegetação climatizada. Foram utilizadas quatro concentrações dos cofatores ácido cafeico (0; 0,15; 0,30 e 0,60 mg L⁻¹), ácido clorogênico (0; 0,30; 0,60 e 1,20 mg L⁻¹), fenilalanina (0; 0,15; 0,30 e 0,60 mg L⁻¹), floroglucinol (0, 100, 200 e 400 mg L⁻¹), hidroquinona (0; 0,10; 0,20 e 0,40 mg L⁻¹), prolina (0; 0,10; 0,20 e 0,40 mg L⁻¹) e triptofano (0; 0,20; 0,40 e 0,80 mg L⁻¹), na formulação líquida, dissolvidos em solução de AIB a 500 mg L⁻¹ (dissolvidos em KOH a 1 mol L⁻¹ e diluídos em água destilada autoclavada). As miniestacas tiveram suas bases (2 cm) mergulhadas na solução de cofator + AIB por um período de 15 segundos, antes de serem plantadas no substrato.

O período compreendido entre o preparo das miniestacas, seus tratamentos com os cofatores e plantio no substrato, na casa de vegetação, foi sempre inferior a 30 minutos.

No enraizamento das miniestacas, utilizaram-se como recipientes tubetes plásticos de 55 cm³ de capacidade, contendo substrato constituído de partes iguais de vermiculita de

granulometria fina e casca de arroz carbonizada. A nutrição mineral utilizada no substrato foi composta por 4,00 kg m⁻³ de Fosmag 500B (MANAH, São Paulo) composto por 4% de N, 14% de P, 7% de K, 14% de Ca, 9% de S, 2% de Mg e 0,5% de B; 5,40 kg m⁻³ de NPK (32:00:03) e 3,06 kg m⁻³ de cloreto de potássio.

O processo de enraizamento das miniestacas foi conduzido em casa de vegetação climatizada (umidade relativa do ar \geq 80% e temperatura em torno de 27 °C), com permanência de 25 dias. Posteriormente, as miniestacas foram transferidas para casa de sombra (permanência de 10 dias para aclimatização) e, finalmente, a pleno sol até completarem 50 dias de idade.

Foram instalados experimentos independentes dos diferentes tipos de cofatores testados (ácido cafeico, ácido clorogênico, fenilalanina, floroglucinol, hidroquinona, prolina e triptofano), os quais seguiram o delineamento experimental inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 4 x 4, constituído de quatro doses para cada cofator e quatro clones (H1, H2, H3 e H4), em quatro repetições e parcelas compostas de 16 plantas/repetição.

2.4. Avaliações experimentais

As avaliações das plantas foram realizadas quanto ao percentual de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (aos 25 dias de idade), percentual de enraizamento e altura das miniestacas na saída da casa de sombra (aos 35 dias de idade). E aos 50 dias de idade a pleno sol avaliaram-se o percentual de sobrevivência, a altura, o diâmetro de colo e a massa da matéria seca da parte aérea e da raiz das miniestacas enraizadas.

As avaliações de altura, diâmetro de colo, massa da matéria seca da parte aérea e do sistema radicular foram realizadas em quatro miniestacas/repetição selecionadas ao acaso em cada tratamento.

Os dados resultantes foram submetidos às análises de variância e regressão, utilizando-se os programas Statistica e Excel.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Eficiência do ácido cafeico no enraizamento adventício

Com base nos resultados da análise de variância das características avaliadas (Quadro 1), observou-se efeito significativo, pelo teste de F ($P > 0,05$), da interação

“clone x tratamento” sobre a maioria das características avaliadas, indicando respostas diferenciadas dos clones ao cofator e aos tratamentos adotados.

Quadro 1 - Resultados da análise de variância das características de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (SOBCV); do percentual de enraizamento (ENRCS) e altura (ALTCS) das miniestacas na saída da casa de sombra; e da sobrevivência (SOB50), altura (ALT50), diâmetro de colo (DC50) e da massa de matéria seca da parte aérea (PSPA) e do sistema radicular (PSR) das plantas aos 50 dias de idade, em função das concentrações do cofator ácido cafeico associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios							
		SOBCV (%)	ENRCS (%)	ALTCS (cm)	SOB50 (%)	ALT50 (cm)	DC50 (mm)	PSPA (g)	PSR (g)
Clone (C)	3	304,36*	1349,89*	117,13*	3376,46*	135,65*	0,91*	17,00*	1,77*
Trat. (T)	3	288,09*	287,07*	17,05 ^{ns}	804,85*	20,56*	0,13 ^{ns}	0,29 ^{ns}	0,01 ^{ns}
C*T	9	66,19 ^{ns}	261,57*	24,43*	409,34*	24,93*	0,22*	2,72*	0,33*
Resíduo	48	54,52	84,03	7,41	79,75	5,74	0,08	0,85	0,10
Média Geral	-	93,4	78,8	13,7	68,2	19,1	2,3	3,8	1,2
CV _{exp} (%)	-	9,5	16,9	28,7	26,2	20,6	16,7	26,2	27,7

“^{ns}” e “*” = não-significativo e significativo, respectivamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de F.

Quanto aos coeficientes de variação experimental encontrados, estes variaram de 9,5 até 28,7%, evidenciando-se razoável precisão experimental em relação às características estudadas, de acordo com os valores normalmente encontrados na literatura (RIBAS, 1997; WENDLING et al., 2000; TITON, 2001).

Os clones H1, H2 e H4 apresentaram resultados semelhantes nos índices de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (acima de 90% de sobrevivência) em todas as doses testadas do ácido cafeico. No entanto, no clone H3 ocorreu decréscimo acentuado nos índices de sobrevivência das miniestacas a partir da dose de 0,30 mg L⁻¹ de ácido cafeico (Figura 1). Em todos os clones, a não-aplicação do ácido cafeico apresentou os melhores resultados dessa característica.

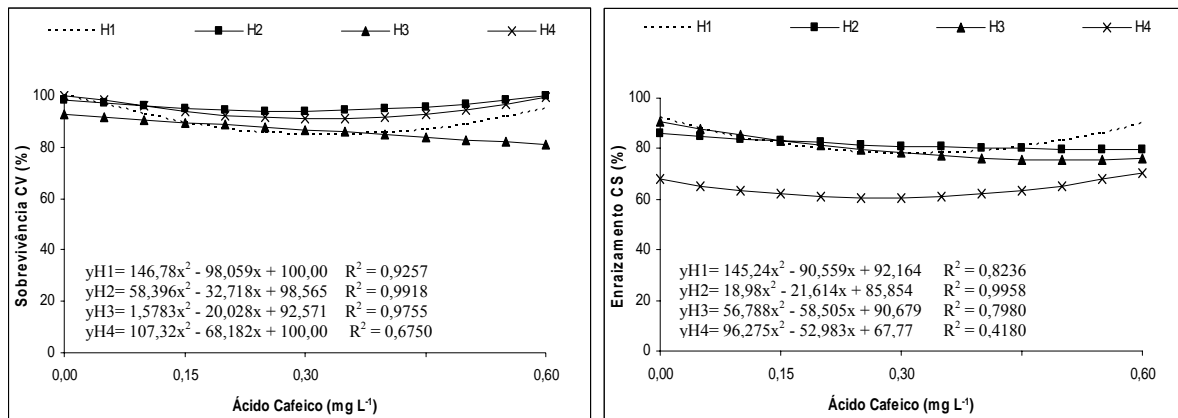


Figura 1 - Sobrevivência e enraizamento das miniestacas na saída da casa de vegetação e na saída da casa de sombra, aos 25 e 35 dias de idade, respectivamente, em função da aplicação do cofator ácido cafeico associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

O enraizamento das miniestacas na saída da casa de sombra (Figura 1) foi semelhante nos clones H1, H2 e H3 até as doses próximas de 0,30 mg L⁻¹ de ácido cafeico, ocorrendo decréscimo no percentual de enraizamento das miniestacas com o aumento das doses desse cofator. No clone H4, foi observado comportamento semelhante aos outros clones, no entanto, com decréscimo acentuado no percentual de enraizamento mesmo quando não houve aplicação do ácido cafeico. Isso pode ser explicado pelo fato de o valor do coeficiente de determinação (R²) na análise de regressão do clone H4 apresentar valor baixo, não denotando confiabilidade na equação de regressão para explicar a resposta dessa característica avaliada.

Com relação à altura das miniestacas na saída da casa de sombra, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos com ácido cafeico. Já quanto à altura das miniestacas a pleno sol, aos 50 dias de idade (Figura 2) os clones H1 e H3 apresentaram os maiores resultados a partir da dose de 0,60 mg L⁻¹ de ácido cafeico. Doses entre 0,15 e 0,30 mg L⁻¹ de ácido cafeico apresentaram os maiores resultados no clone H2. Já, com o clone H4, notou-se decréscimo nos resultados de altura das miniestacas na saída da casa de sombra com o aumento das doses do ácido cafeico.

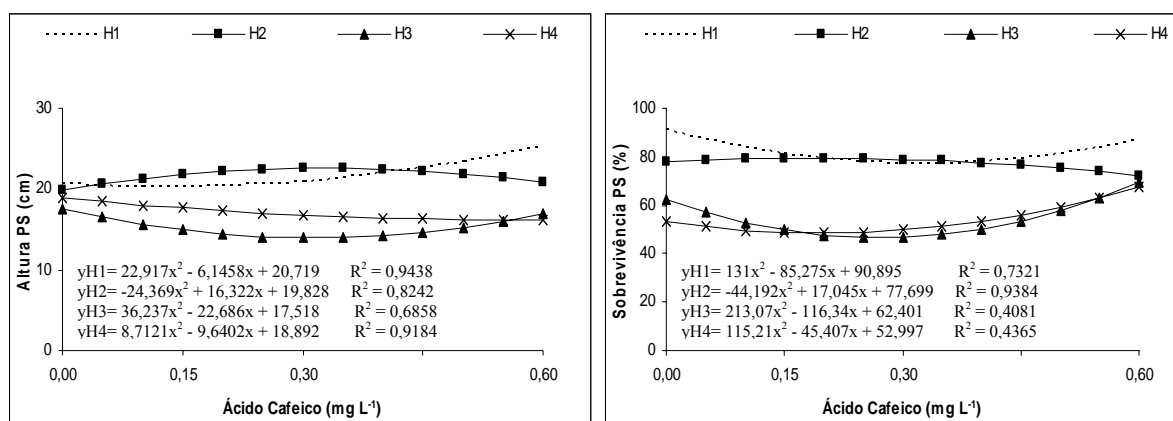


Figura 2 - Altura e sobrevivência das miniestacas a pleno sol, aos 50 dias de idade, em função da aplicação do cofator ácido cafeico associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Na sobrevivência das miniestacas aos 50 dias de idade (Figura 2), o comportamento apresentado pelos clones, ao utilizar o ácido cafeico, foi bastante semelhante ao enraizamento na saída da casa de sombra (Figura 1), com exceção do clone H2, que não teve decréscimos significativos no percentual de sobrevivência das miniestacas com a aplicação de maiores doses desse cofator. No clone H2, os maiores índices de sobrevivência das miniestacas ocorreram entre 0,15 e 0,30 mg L⁻¹ de ácido cafeico. Nos clones H1, H3 e H4, os maiores índices de sobrevivência das miniestacas ocorreram a partir de 0,60 mg L⁻¹ de ácido cafeico, ainda que os valores dos coeficientes de determinação (R²) nas análises de regressão dos clones H3 e H4 tenham sido inferiores aos R² dos outros clones.

Quanto aos resultados de diâmetro de colo, peso de matéria seca da parte aérea e do sistema radicular das plantas a pleno sol, não foi observado diferença estatística entre os tratamentos com ácido cafeico.

A hipótese era de que a aplicação de ácido cafeico associado ao AIB promovesse aumento nos índices de enraizamento e de sobrevivência das miniestacas, à semelhança dos resultados de enraizamento das plântulas de *Eucalyptus grandis* obtidos por LIMA (1998), também utilizando ácido cafeico associado ao AIB. Isso se confirmou no clone H2 com doses entre 0,15 e 0,30 mg L⁻¹ de ácido cafeico e com os clones H1, H3 e H4, nas doses acima de 0,60 mg L⁻¹ de ácido cafeico.

3.2. Eficiência do ácido clorogênico no enraizamento adventício

Com base nos resultados da análise de variância das características avaliadas (Quadro 2), observou-se efeito significativo, pelo teste de F (P > 0,05), da interação “clone x

tratamento” sobre a maioria das características avaliadas, indicando respostas diferenciadas dos clones em relação ao cofator e aos tratamentos adotados.

Quadro 2 - Resultados da análise de variância das características de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (SOBCV); do percentual de enraizamento (ENRCS) e altura (ALTCS) das miniestacas na saída da casa de sombra; e da sobrevivência (SOB50), altura (ALT50), diâmetro de colo (DC50) e da massa de matéria seca da parte aérea (PSPA) e do sistema radicular (PSR) das plantas aos 50 dias de idade, em função das concentrações do cofator ácido clorogênico associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios							
		SOBCV (%)	ENRCS (%)	ALTCS (cm)	SOB50 (%)	ALT50 (cm)	DC50 (mm)	PSPA (g)	PSR (g)
Clone (C)	3	441,69*	2435,51*	132,14*	2406,41*	184,61*	0,64*	11,76*	1,24*
Trat. (T)	3	265,91*	394,49*	7,94 ^{ns}	1436,36*	7,34 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,76 ^{ns}	0,15 ^{ns}
C*T	9	402,09*	398,29*	32,27*	734,86*	40,86*	0,23*	3,12*	0,15 ^{ns}
Resíduo	48	73,85	90,54	7,12	80,57	7,57	0,07	0,95	0,08
Média Geral	-	94,6	79,9	13,6	71,3	19,1	2,2	3,6	1,2
CV _{exp} (%)	-	12,8	20,2	29,2	26,2	23,8	16,2	26,5	28,6

“^{ns}” e “*” = não-significativo e significativo, respectivamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de F.

Quanto aos coeficientes de variação experimental encontrados, estes variaram de 12,8 até 29,2%, evidenciando-se razoável precisão experimental em relação às características estudadas, de acordo com os valores normalmente encontrados na literatura (RIBAS, 1997; WENDLING et al., 2000; TITON, 2001).

Na Figura 3, observa-se que a aplicação de ácido clorogênico não influenciou a sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação nos clones H1 e H4, exceto no clone H3, que apresentou decréscimos nos índices de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação a partir das doses de 0,60 mg L⁻¹ de ácido clorogênico. No clone H2, os melhores índices de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação foram a partir de 0,60 mg L⁻¹ de ácido clorogênico.

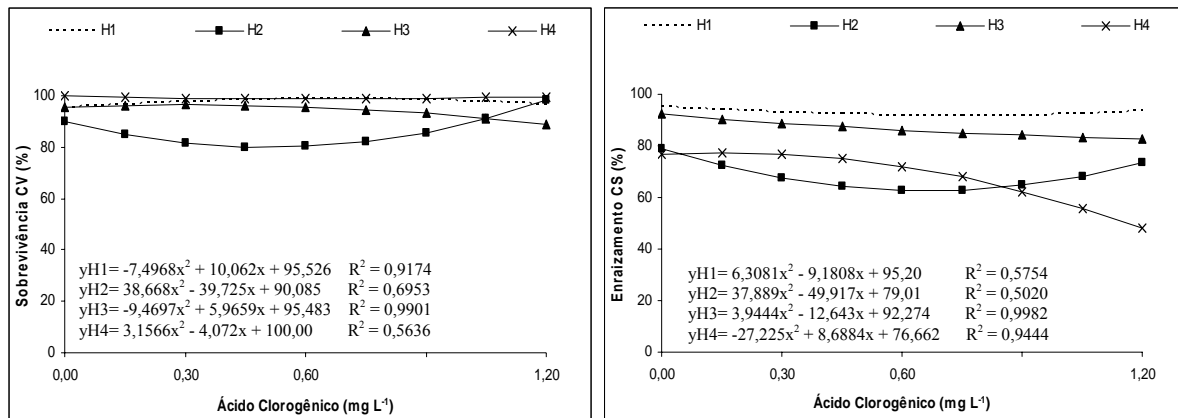


Figura 3 - Sobrevivência e enraizamento das miniestacas na saída da casa de vegetação e na saída da casa de sombra, aos 25 e 35 dias de idade, respectivamente, em função da aplicação do cofator ácido clorogênico associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Ao analisar o enraizamento das miniestacas na saída da casa de sombra (Figura 3), podem-se observar resultados semelhantes nos clones H1, H2 e H3, em comparação com os resultados da sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação, exceto no clone H4, que apresentou os melhores índices de enraizamento das miniestacas na saída da casa de sombra com doses de até 0,30 mg L⁻¹ de ácido clorogênico.

Na sobrevivência das miniestacas a pleno sol, aos 50 dias de idade (Figura 4) o comportamento apresentado pelos clones H1, H2 e H4 foi semelhante ao observado nesses clones no enraizamento na saída da casa de sombra, aos 35 dias de idade (Figura 3). A aplicação de ácido clorogênico não influenciou a sobrevivência das miniestacas a pleno sol no clone H1. Os clones H3 e H4 exibiram os melhores índices de sobrevivência das miniestacas a pleno sol com doses de até 0,30 mg L⁻¹ de ácido clorogênico, ocorrendo decréscimo nos índices de sobrevivência a partir dessa dose.

Quanto aos resultados de altura das miniestacas na saída da casa de sombra e a pleno sol, diâmetro de colo, peso de matéria seca da parte aérea e do sistema radicular das plantas a pleno sol, não foi observada diferença estatística entre os tratamentos com ácido clorogênico.

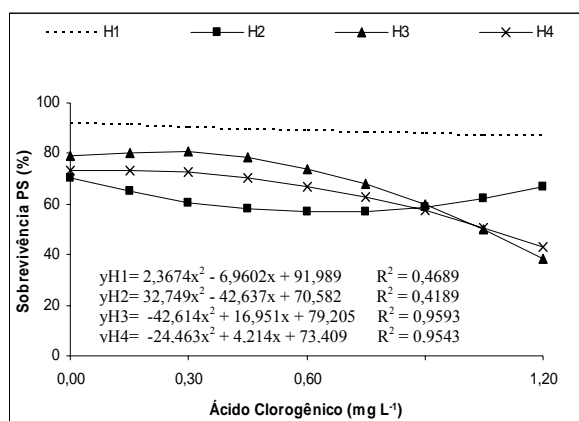


Figura 4 – Sobrevivência das miniestacas a pleno sol, aos 50 dias de idade, em função da aplicação do cofator ácido clorogênico associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

A hipótese era de que a aplicação de ácido clorogênico associado ao AIB nas miniestacas promovesse aumento nos índices de enraizamento e sobrevivência, baseando-se em alguns trabalhos que utilizaram esse cofator.

O ácido clorogênico, associado ao AIB, estimulou o enraizamento adventício em microestacas de *Eucalyptus citriodora* (ABREU et al., 1993) e também melhorou o enraizamento adventício de estacas de macieira M9 Jork (CABONI et al., 1992). Isso foi confirmado nos clones H2, com a aplicação de doses a partir de 0,60 mg L⁻¹ de ácido clorogênico e nos clones H3 e H4, com a aplicação de até 0,30 mg L⁻¹ de ácido clorogênico. No entanto, a aplicação desse cofator não melhorou os índices de enraizamento e sobrevivência no clone H1, fato esse também encontrado por LIMA (1998), trabalhando com plântulas de *Eucalyptus grandis*, que observou que o ácido clorogênico, associado ao AIB, não teve influência sobre o percentual de enraizamento, número de raízes e comprimento da raiz e da parte aérea.

3.3. Eficiência da fenilalanina no enraizamento adventício

Com base nos resultados da análise de variância das características avaliadas (Quadro 3), observou-se efeito significativo, pelo teste de F ($P > 0,05$), da interação “clone x tratamento” sobre todas as características avaliadas, indicando respostas diferenciadas dos clones ao cofator e aos tratamentos adotados.

Quadro 3 - Resultados da análise de variância das características de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (SOBCV); do percentual de enraizamento (ENRCS) e altura (ALTCS) das miniestacas na saída da casa de sombra; e da sobrevivência (SOB50), altura (ALT50), diâmetro de colo (DC50) e da massa de matéria seca da parte aérea (PSPA) e do sistema radicular (PSR) das plantas aos 50 dias de idade, em função das concentrações do cofator fenilalanina associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios							
		SOBCV (%)	ENRCS (%)	ALTCS (cm)	SOB50 (%)	ALT50 (cm)	DC50 (mm)	PSPA (g)	PSR (g)
Clone (C)	3	297,04*	729,78*	260,50*	2845,05*	360,01*	2,67*	24,33*	1,72*
Trat. (T)	3	114,75 ^{ns}	135,70 ^{ns}	47,55*	587,57*	73,44*	0,46*	2,96 ^{ns}	0,42*
C*T	9	218,37*	380,38*	31,02*	700,41*	24,00*	0,21*	3,28*	0,30*
Resíduo	48	49,24	97,86	10,56	156,25	9,95	0,08	1,38	0,14
Média Geral	-	91,6	79,9	13,9	69,5	19,6	2,2	3,9	1,4
CV _{exp} (%)	-	10,3	16,3	27,5	28,1	28,8	22,1	22,7	26,5

“^{ns}” e “*” = não-significativo e significativo, respectivamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de F.

Os coeficientes de variação experimental encontrados variaram de 10,3 até 28,8%, evidenciando-se razoável precisão experimental em relação às características estudadas, de acordo com os valores normalmente encontrados na literatura (RIBAS, 1997; WENDLING et al., 2000; TITON, 2001).

Não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos dos clones estudados em relação às características de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação e enraizamento das miniestacas na saída da casa de sombra (Quadro 3).

Quanto à altura das miniestacas na saída da casa de sombra (Figura 5), notou-se que no clone H1 a aplicação de doses crescentes de fenilalanina não influenciou o crescimento das miniestacas. O clone H2 apresentou os melhores índices de crescimento em altura das miniestacas na saída da casa de sombra a partir da aplicação de 0,60 mg L⁻¹ de fenilalanina. No clone H3, a aplicação de doses de até 0,15 mg L⁻¹ de fenilalanina e, no clone H4, a aplicação de doses entre 0,15 e 0,30 mg L⁻¹ de fenilalanina apresentaram os melhores resultados em altura das miniestacas na saída da casa de sombra; a partir dessas doses, notou-se decréscimo nos índices de crescimento em altura das miniestacas.

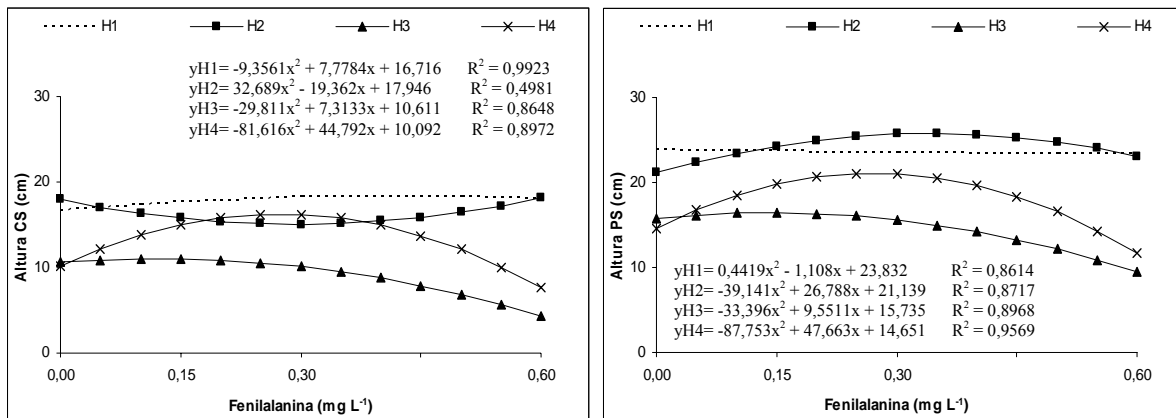


Figura 5 - Altura das miniestacas na saída da casa de sombra e a pleno sol, aos 35 e 50 dias de idade, respectivamente, em função da aplicação do cofator fenilalanina associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Com relação à altura das miniestacas a pleno sol, aos 50 dias de idade, observou-se um comportamento semelhante nos clones H1, H3 e H4, em comparação com a altura das miniestacas na saída da casa de sombra (Figura 5); exceto para o clone H2, que apresentou os melhores resultados de altura das miniestacas a pleno sol, aplicando-se doses entre 0,15 e 0,30 mg L⁻¹ de fenilalanina.

Na Figura 6, observa-se que a aplicação de fenilalanina não influenciou significativamente aumento nos índices de sobrevivência das plantas a pleno sol, aos 50 dias de idade, no clone H1. No clone H2, a aplicação de fenilalanina influenciou significativamente o aumento dos índices de sobrevivência das plantas a pleno sol, sendo os melhores resultados obtidos a partir de 0,60 mg L⁻¹ de fenilalanina, ao contrário do ocorrido com o clone H3, em que a não-aplicação de fenilalanina apresentou os melhores resultados para essa característica. Já no clone H4 os melhores resultados de sobrevivência das plantas a pleno sol foram com aplicações de até 0,15 mg L⁻¹ de fenilalanina.

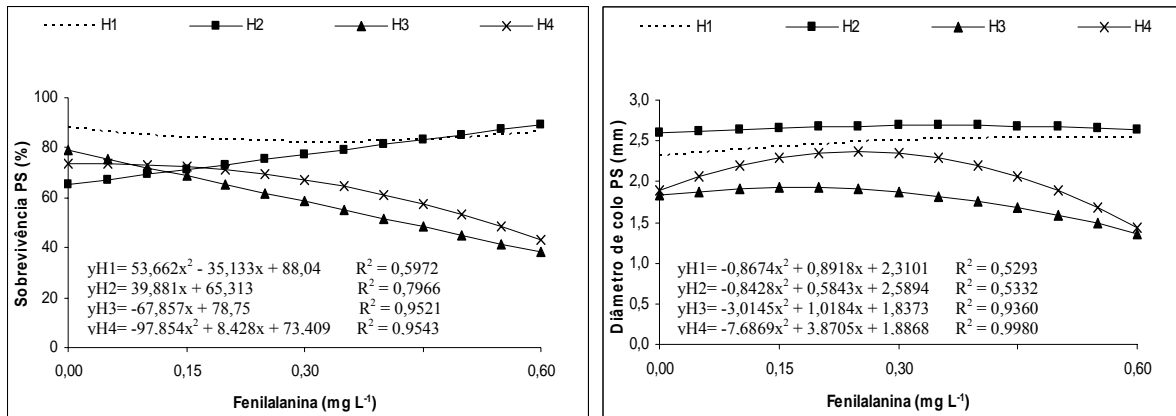


Figura 6 – Sobrevivência e diâmetro de colo das miniestacas a pleno sol, aos 50 dias de idade, em função da aplicação do cofator fenilalanina associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Os clones H1 e H2 responderam semelhantemente à aplicação de doses crescentes de fenilalanina quanto ao diâmetro de colo a pleno sol, apresentando os melhores resultados em relação aos outros clones (Figura 6). Nos clones H3 e H4, a aplicação de 0,15 a 0,30 mg L⁻¹ de fenilalanina apresentou os melhores resultados de diâmetro de colo a pleno sol.

Quanto aos resultados de peso de matéria seca da parte aérea das plantas a pleno sol, não se observou diferença estatística entre os tratamentos com fenilalanina. No entanto, nos resultados de peso de matéria seca da raiz (Figura 7), notou-se em destaque o clone H2, com os melhores resultados entre 0,30 e 0,60 mg L⁻¹ de fenilalanina. O clone H1 teve os melhores resultados de peso de matéria seca da raiz a partir da aplicação de 0,60 mg L⁻¹ de fenilalanina. Já os clones H3 e H4 exibiram os melhores resultados de peso de matéria seca da raiz até 0,15 mg L⁻¹ de fenilalanina e entre 0,15 e 0,30 de fenilalanina, respectivamente.

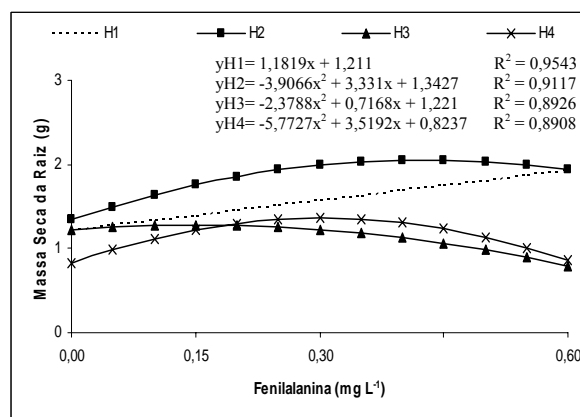


Figura 7 – Massa da matéria seca da raiz das miniestacas a pleno sol, aos 50 dias de idade, em função da aplicação do cofator fenilalanina associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

A hipótese era de que a aplicação de fenilalanina, associada ao AIB, melhorasse a resposta do enraizamento e da sobrevivência das miniestacas, já que a fenilalanina é precursora de fenóis e, segundo MATTOS (1982), os efeitos positivos de compostos fenólicos no enraizamento se devem à inibição da AIA-oxidase por eles, prevenindo a destruição da auxina. Isso foi confirmado nos clones H2 e H4 nas doses a partir de 0,60 mg L⁻¹ e na aplicação de doses até 0,15 de mg L⁻¹ de fenilalanina, respectivamente. No entanto, nos outros clones a utilização desse cofator não melhorou os índices de enraizamento e de sobrevivência.

3.4. Eficiência do floroglucinol no enraizamento adventício

Com base nos resultados da análise de variância das características avaliadas (Quadro 4), observou-se efeito significativo, pelo teste de F ($P > 0,05$), da interação “clone x tratamento” sobre algumas das características avaliadas, indicando respostas diferenciadas dos clones em relação ao cofator e aos tratamentos adotados.

Quadro 4 - Resultados da análise de variância das características de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (SOBCV); do percentual de enraizamento (ENRCS) e altura (ALTCS) das miniestacas na saída da casa de sombra; e da sobrevivência (SOB50), altura (ALT50), diâmetro de colo (DC50) e da massa de matéria seca da parte aérea (PSPA) e do sistema radicular (PSR) das plantas aos 50 dias de idade, em função das concentrações do cofator floroglucinol associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios							
		SOBCV (%)	ENRCS (%)	ALTCS (cm)	SOB50 (%)	ALT50 (cm)	DC50 (mm)	PSPA (g)	PSR (g)
Clone (C)	3	122,07*	1240,23*	54,05*	2214,36*	108,24*	0,61*	3,24 ^{ns}	0,28 ^{ns}
Trat. (T)	3	122,07*	3,26 ^{ns}	22,71 ^{ns}	417,48*	11,36 ^{ns}	0,06 ^{ns}	1,88 ^{ns}	0,08 ^{ns}
C*T	9	70,53 ^{ns}	219,18*	24,83*	168,46 ^{ns}	29,49*	0,14 ^{ns}	1,94 ^{ns}	0,23*
Residuo	48	34,99	79,75	8,15	148,93	10,34	0,10	1,51	0,11
Média Geral	-	93,8	82,8	14,1	75,2	19,3	2,2	3,8	1,2
CV _{exp} (%)	-	7,4	14,9	25,9	21,6	21,9	16,1	23,9	27,9

“^{ns}” e “*” = não-significativo e significativo, respectivamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de F.

Os coeficientes de variação experimental encontrados variaram de 7,4 até 27,9%, evidenciando-se razoável precisão experimental em relação às características estudadas, de acordo com os valores normalmente encontrados na literatura (RIBAS, 1997; WENDLING et al., 2000; TITON, 2001).

Os clones H1, H3 e H4 apresentaram resultados semelhantes nos índices de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação em todas as doses testadas de floroglucinol, sendo os melhores resultados de sobrevivência obtidos em doses a partir de 400 mg L⁻¹ de floroglucinol (Figura 8). No entanto, no clone H2 a não-aplicação de floroglucinol exibiu os melhores resultados de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação.

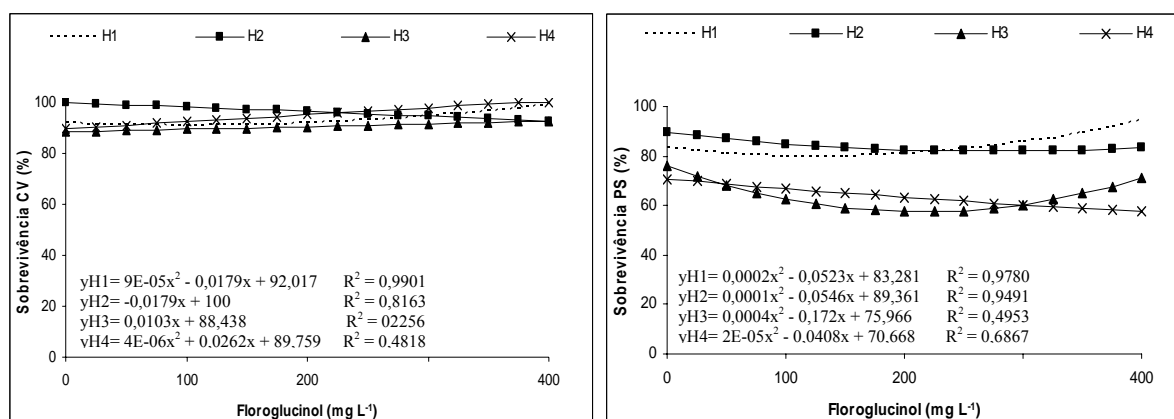


Figura 8 - Sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação e a pleno sol, aos 25 e 50 dias de idade, respectivamente, em função da aplicação do cofator floroglucinol associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Quanto à sobrevivência das plantas a pleno sol, aos 50 dias de idade (Figura 8) o comportamento entre os clones H1 e H3, utilizando-se floroglucinol, foi semelhante, sendo os melhores resultados obtidos com doses superiores a 200 mg L⁻¹ de floroglucinol. Já nos clones H2 e H4 os melhores resultados de sobrevivência das plantas a pleno sol foram obtidos com a não-aplicação de floroglucinol.

Nos clones H3 e H4, os coeficientes de determinação (R²) nas análises de regressão apresentaram valores baixos, não denotando confiabilidade das equações de regressão para explicar as respostas de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (H3 e H4) e a pleno sol (H3).

Não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos nos clones estudados em relação às características de enraizamento das miniestacas na saída da casa de sombra, altura na saída da casa de sombra e a pleno sol, diâmetro de colo e peso de matéria seca da parte aérea e da raiz das plantas a pleno sol (Quadro 4).

A hipótese era de que a aplicação de floroglucinol associado ao AIB melhorasse a resposta do enraizamento adventício e da sobrevivência das miniestacas dos clones estudados.

Isso foi confirmado nos clones H1 e H3 com aplicação de doses a partir de 200 mg L⁻¹ de floroglucinol. No entanto, nos outros clones a utilização desse cofator não melhorou os índices de enraizamento e de sobrevivência.

Os resultados obtidos com os clones H1 e H3 confirmaram aqueles encontrados por VAZ e NEGUEROLES (1979), trabalhando com brotos apicais de pessegueiro e macieira, RODRIGUES et al. (1993), com brotações de macieira; LIMA (1998), com estacas de *Eucalyptus grandis*; ZANOL et al. (1998), trabalhando com microestacas de macieira, também estudando o efeito do floroglucinol, associado com AIB, no enraizamento adventício. Esses mesmos autores concluíram ter essa substância efeito estimulante no enraizamento dessas espécies. Por outra parte, RUFATO et al. (2001), em estudos semelhantes, verificaram que o floroglucinol não promoveu o enraizamento de estacas de marmeleiro, confirmando aqueles encontrados com os clones H2 e H4.

3.5. Eficiência da hidroquinona no enraizamento adventício

Com base nos resultados da análise de variância das características avaliadas (Quadro 5), observou-se efeito significativo, pelo teste de F ($P > 0,05$), da interação “clone x tratamento” sobre apenas duas das características avaliadas, indicando respostas diferenciadas dos clones em relação ao cofator e aos tratamentos adotados.

Quadro 5 - Resultados da análise de variância das características de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (SOBCV); do porcentual de enraizamento (ENRCS) e altura (ALTCS) das miniestacas na saída da casa de sombra; e da sobrevivência (SOB50), altura (ALT50), diâmetro de colo (DC50) e da massa de matéria seca da parte aérea (PSPA) e do sistema radicular (PSR) das plantas aos 50 dias de idade, em função das concentrações do cofator hidroquinona associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios							
		SOBCV (%)	ENRCS (%)	ALTCS (cm)	SOB50 (%)	ALT50 (cm)	DC50 (mm)	PSPA (g)	PSR (g)
Clone (C)	3	85,25 ^{ns}	2736,61*	262,10*	5646,16*	303,08*	2,08*	20,16*	3,33*
Trat. (T)	3	26,65 ^{ns}	321,25 ^{ns}	20,87 ^{ns}	1193,03*	29,83 ^{ns}	0,41 ^{ns}	3,10 ^{ns}	0,22 ^{ns}
C*T	9	116,17*	140,04 ^{ns}	16,35 ^{ns}	258,25 ^{ns}	21,57 ^{ns}	0,12 ^{ns}	1,57 ^{ns}	0,36*
Resíduo	48	51,47	177,21	10,38	277,51	11,84	0,16	1,20	0,09
Média Geral	-	94,2	80,9	13,3	65,2	18,2	2,2	3,8	1,3
CV _{exp} (%)	-	8,3	21,4	26,6	26,7	29,0	23,5	20,0	21,4

“^{ns}” e “*” = não-significativo e significativo, respectivamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de F.

Os coeficientes de variação experimental encontrados variaram de 8,3 até 29,0%, evidenciando-se razoável precisão experimental em relação às características estudadas, de acordo com os valores normalmente encontrados na literatura (RIBAS, 1997; WENDLING *et al.*, 2000; TITON, 2001).

Não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos dos clones estudados em relação às características de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação, enraizamento na saída da casa de sombra, altura na saída da casa de sombra e a pleno sol, diâmetro de colo e peso de matéria seca da parte aérea e da raiz das plantas a pleno sol (Quadro 5).

Os resultados de sobrevivência das plantas a pleno sol, aos 50 dias de idade (Figura 9), indicaram que o clone H1 destacou-se dos demais, sendo os melhores resultados obtidos entre 0,20 e 0,40 mg L⁻¹ de hidroquinona. Os clones H2 e H3 apresentaram resultados de sobrevivência das plantas a pleno sol semelhantes entre si, com os maiores resultados a partir da dose de 0,40 mg L⁻¹ de hidroquinona. No clone H4, a aplicação de hidroquinona não apresentou acréscimos significativos nos índices de sobrevivência das plantas a pleno sol.

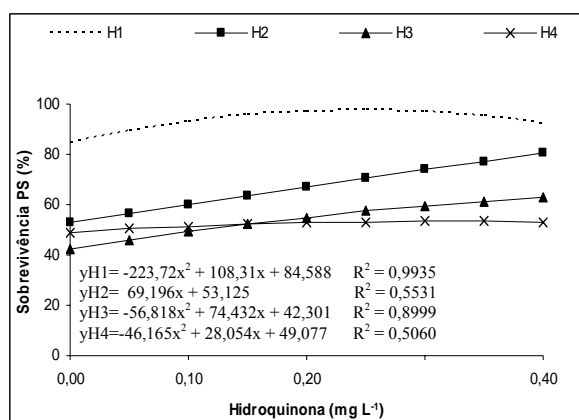


Figura 9 – Sobrevivência das miniestacas a pleno sol, aos 50 dias de idade, em função da aplicação do cofator hidroquinona associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

A hipótese era de que a aplicação de hidroquinona associada ao AIB nas miniestacas promovesse aumento nos índices de enraizamento e sobrevivência, sendo confirmado nos clones H1, H2 e H3.

LIMA (1998), trabalhando com plântulas de *Eucalyptus grandis*, constatou que a hidroquinona, associada ao AIB, não teve influência sobre o porcentual de enraizamento e comprimento da parte aérea das plântulas, porém apresentou efeito benéfico no comprimento

de raízes. Já James et al. (1981), citados por LIMA (1998), obtiveram resultados positivos com relação à rizogênese de estacas de macieira, utilizando hidroquinona associada ao AIA.

3.6. Eficiência da prolina no enraizamento adventício

Com base nos resultados da análise de variância das características avaliadas (Quadro 6), observou-se efeito significativo, pelo teste de F ($P > 0,05$), da interação “clone x tratamento” sobre a maioria das características avaliadas, indicando respostas diferenciadas dos clones em relação ao cofator e aos tratamentos adotados.

Quadro 6 - Resultados da análise de variância das características de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (SOBCV); do percentual de enraizamento (ENRCS) e altura (ALTCS) das miniestacas na saída da casa de sombra; e da sobrevivência (SOB50), altura (ALT50), diâmetro de colo (DC50) e da massa de matéria seca da parte aérea (PSPA) e do sistema radicular (PSR) das plantas aos 50 dias de idade, em função das concentrações do cofator prolina associado a 500 mg L^{-1} de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios							
		SOBCV (%)	ENRCS (%)	ALTCS (cm)	SOB50 (%)	ALT50 (cm)	DC50 (mm)	PSPA (g)	PSR (g)
Clone (C)	3	501,91*	500,28*	501,39*	1071,78*	523,95*	1,52*	36,45*	2,12*
Trat. (T)	3	1006,47*	1408,49*	30,23*	2445,48*	40,03*	0,16 ^{ns}	1,53 ^{ns}	0,35 ^{ns}
C*T	9	309,86*	256,14*	27,90*	209,69 ^{ns}	28,10*	0,22*	2,01 ^{ns}	0,36*
Resíduo	48	96,23	116,98	6,04	262,45	7,70	0,10	1,01	0,17
Média Geral	-	92,3	83,1	15,1	73,2	19,8	2,3	3,8	1,3
CV _{exp} (%)	-	14,9	17,7	28,5	27,2	23,7	19,2	24,4	21,8

“^{ns}” e “*” = não-significativo e significativo, respectivamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de F.

Os coeficientes de variação experimental encontrados variaram de 14,9 até 28,5%, evidenciando-se razoável precisão experimental em relação às características estudadas, de acordo com os valores normalmente encontrados na literatura (RIBAS, 1997; WENDLING et al., 2000; TITON, 2001).

Os clones H1, H3 e H4 apresentaram respostas semelhantes entre si quanto a sobrevivência na saída da casa de vegetação (Figura 10), sendo os melhores resultados obtidos com a aplicação de $0,40 \text{ mg L}^{-1}$ de prolina, atingindo 100% de sobrevivência na saída da casa de vegetação. O clone H2 exibiu os maiores índices de sobrevivência na saída da casa de vegetação, aplicando-se doses entre $0,20$ e $0,40 \text{ mg L}^{-1}$ de prolina.

Quanto ao enraizamento na saída da casa de sombra (Figura 10), os clones H1, H2 e H4 apresentaram comportamento semelhante ao encontrado na saída da casa de vegetação. No clone H3, os melhores resultados de enraizamento foram obtidos com doses a partir de 0,20 mg L⁻¹ de prolina.

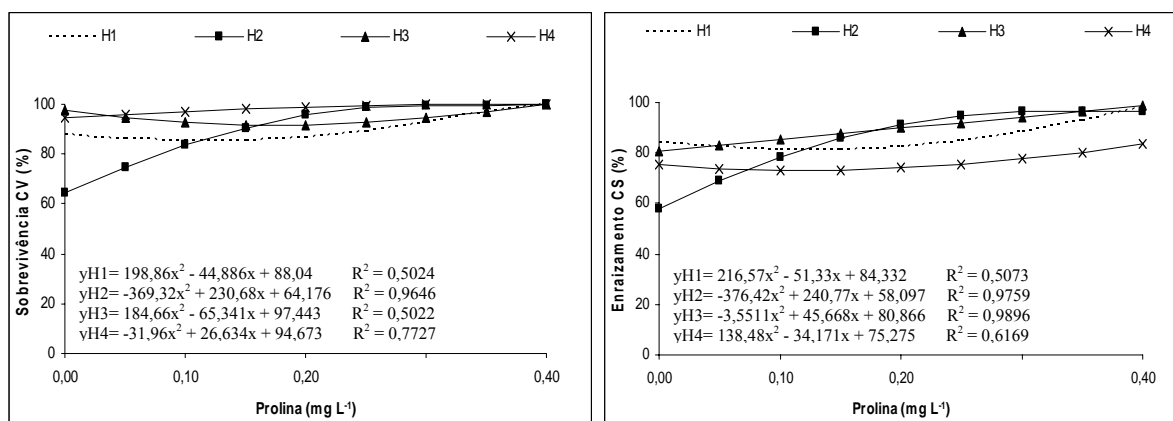


Figura 10 - Sobrevivência e enraizamento das miniestacas na saída da casa de vegetação e na saída da casa de sombra, aos 25 e 35 dias de idade, respectivamente, em função da aplicação do cofator prolina a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Quanto à altura das miniestacas na saída da casa de sombra (Figura 11), notou-se que no clone H4 a aplicação de doses crescentes de prolina não influenciou significativamente no crescimento das miniestacas. Nos clones H1 e H3, a aplicação de doses a partir de 0,20 mg L⁻¹ de prolina apresentaram os melhores resultados, já para o clone H2 a não-aplicação de prolina exibiu os melhores índices de crescimento em altura das miniestacas na saída da casa de sombra.

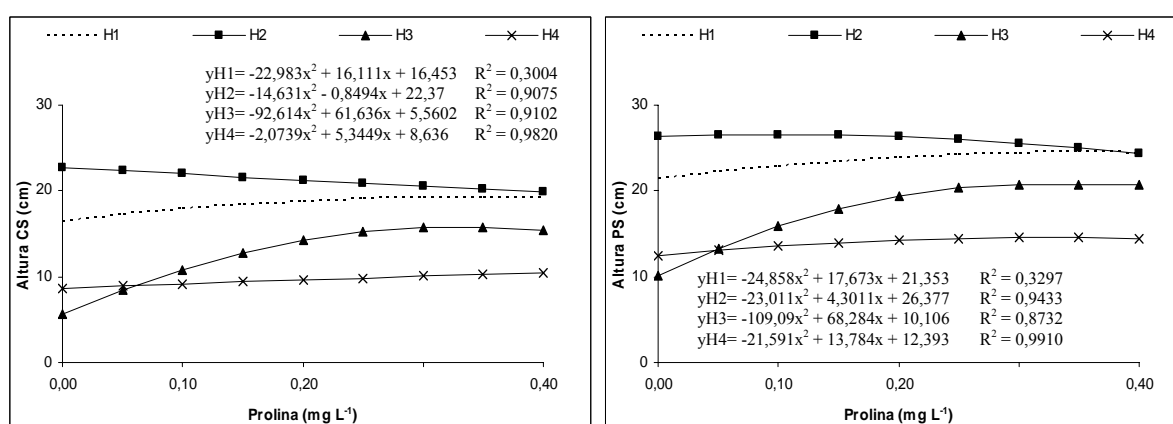


Figura 11 - Altura das miniestacas na saída da casa de sombra e a pleno sol, aos 35 e 50 dias de idade, respectivamente, em função da aplicação do cofator prolina associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Analisando a altura das miniestacas a pleno sol (Figura 11), observou-se que o comportamento dos clones H1, H3 e H4 foi semelhante ao encontrado na saída da casa de sombra. No entanto, no clone H2 os melhores resultados de crescimento em altura das miniestacas ocorreram com a aplicação de até 0,10 mg L⁻¹ de prolina.

No clone H1, os coeficientes de determinação (R²) nas análises de regressão apresentaram valores baixos, não denotando confiabilidade das equações de regressão para explicar as respostas de altura das miniestacas na saída da casa de sombra e a pleno sol.

Em relação à sobrevivência das plantas a pleno sol (Figura 12), os clones H1, H2, H3 e H4 apresentaram comportamento semelhante ao encontrado na saída da casa de sombra. Os melhores resultados de sobrevivência das plantas a pleno sol foram obtidos nos clones H1 e H4 com doses a partir de 0,40 mg L⁻¹ de prolina e nos clones H2 e H3, com doses entre 0,20 e 0,40 mg L⁻¹ de prolina.

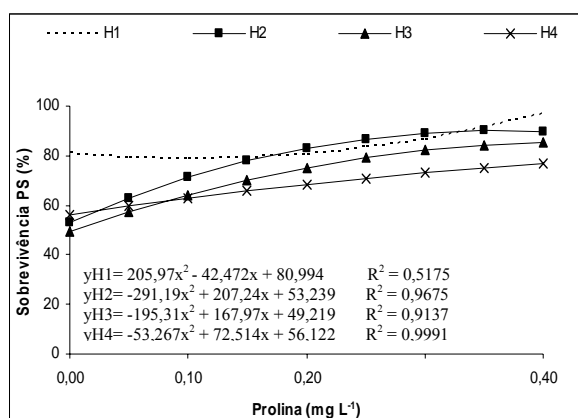


Figura 12 – Sobrevivência das miniestacas a pleno sol, aos 50 dias de idade, em função da aplicação do cofator prolina associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos dos clones estudados em relação às características de diâmetro de colo e peso de matéria seca da parte aérea e da raiz das plantas a pleno sol (Quadro 6).

A hipótese era de que a aplicação de prolina associada com AIB nas miniestacas promovesse aumento nos índices de enraizamento e sobrevivência, situação esta confirmada em todos os clones estudados.

Resultados benéficos utilizando a prolina, associada ao AIB, foram encontrados por LIMA (1998), que constatou que a adição de prolina no meio de cultura aumentou o percentual de enraizamento de plântulas de *Eucalyptus grandis*. Já CAMARA et al. (2000) verificaram que a adição de prolina no meio de cultura favoreceu o crescimento de calos em

tecidos da planta de milho. A prolina também aumentou a porcentagem de brotos enraizados e o número de raízes por brotos em *Prunus avium* e *P. cerasus* (ORLIKOWSKA, 1992).

Quando comparada com os outros cofatores estudados neste trabalho, as miniestacas tratadas com prolina foram superiores às demais. Isso se deve ao fato de a prolina exercer importante papel de osmorregulador no metabolismo das plantas, ou seja, juntamente com outros solutos (aminoácidos, açúcares, ácidos orgânicos e íons orgânicos), a prolina mantém o equilíbrio do potencial hídrico dentro da célula, possibilitando a continuação do alongamento celular, facilitando condutâncias estomáticas mais altas sob potenciais hídricos mais baixos, aumentando o turgor e mantendo o crescimento dos meristemas das raízes, indicando que o ajuste osmótico é uma aclimação que aumenta a tolerância à desidratação (HARE e CRESS, 1997; TAIZ e ZEIGER, 2004).

3.7. Eficiência do triptofano no enraizamento adventício

Com base nos resultados da análise de variância das características avaliadas (Quadro 7), observou-se efeito significativo, pelo teste de F ($P > 0,05$), da interação “clone x tratamento” sobre apenas uma das características avaliadas, indicando respostas diferenciadas dos clones em relação ao cofator e aos tratamentos adotados.

Quadro 7 - Resultados da análise de variância das características de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (SOBCV); do percentual de enraizamento (ENRCS) e altura (ALTCS) das miniestacas na saída da casa de sombra; e da sobrevivência (SOB50), altura (ALT50), diâmetro de colo (DC50) e da massa de matéria seca da parte aérea (PSPA) e do sistema radicular (PSR) das plantas aos 50 dias de idade, em função das concentrações do cofator triptofano associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios							
		SOBCV (%)	ENRCS (%)	ALTCS (cm)	SOB50 (%)	ALT50 (cm)	DC50 (mm)	PSPA (g)	PSR (g)
Clone (C)	3	13,83 ^{ns}	77,11 ^{ns}	137,27*	387,98*	138,78*	0,43*	4,75*	0,31*
Trat. (T)	3	88,70 ^{ns}	221,96*	33,13*	475,87*	41,50*	0,01 ^{ns}	4,37 ^{ns}	0,14 ^{ns}
C*T	9	56,69 ^{ns}	97,18*	9,72 ^{ns}	182,90 ^{ns}	11,27 ^{ns}	0,05 ^{ns}	1,03 ^{ns}	0,08 ^{ns}
Resíduo	48	37,03	42,52	8,09	109,25	8,19	0,07	1,17	0,10
Média Geral	-	95,9	90,1	13,7	83,5	18,8	2,1	3,6	1,2
CV _{exp} (%)	-	6,7	8,6	28,8	14,7	21,6	13,6	23,5	28,1

“^{ns}” e “*” = não-significativo e significativo, respectivamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de F.

Os coeficientes de variação experimental encontrados variaram de 6,7 até 28,8%, evidenciando-se razoável precisão experimental em relação às características estudadas, de

acordo com os valores normalmente encontrados na literatura (RIBAS, 1997; WENDLING et al., 2000; TITON, 2001).

Não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos dos clones estudados em relação às características de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação, diâmetro de colo e peso de matéria seca da parte aérea e da raiz das plantas a pleno sol (Quadro 7).

Quanto ao enraizamento das miniestacas na saída da casa de sombra (Figura 13), os clones H2, H3 e H4 apresentaram comportamento semelhante entre si, sendo os melhores resultados de enraizamento das miniestacas na saída da casa de sombra obtidos com doses superiores a 0,80 mg L⁻¹ de triptofano. Já no clone H1 os melhores resultados de sobrevivência na saída da casa de sombra foram obtidos com aplicação de até 0,20 mg L⁻¹ de triptofano.

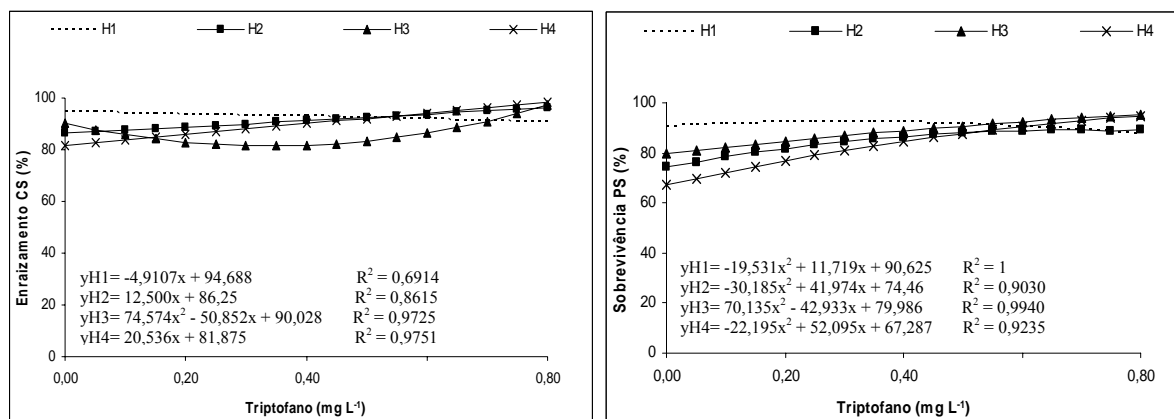


Figura 13 - Enraizamento e sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação e a pleno sol, aos 35 e 50 dias de idade, respectivamente, em função da aplicação do cofator triptofano associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Os resultados de sobrevivência das miniestacas a pleno sol foram semelhantes aos encontrados no enraizamento das miniestacas na saída da casa de sombra (Figura 13), sendo nos clones H2, H3 e H4 os melhores índices de sobrevivência a pleno sol obtidos com a aplicação de doses superiores a 0,80 mg L⁻¹ de triptofano; e no clone H1 os melhores resultados foram obtidos com a aplicação de até 0,20 mg L⁻¹ de triptofano.

Com relação à altura das miniestacas na saída da casa de sombra (Figura 14), observou-se nos clones H1 e H2 que a não-aplicação de triptofano apresentou os melhores resultados de crescimento em altura. Os clones H3 e H4 exibiram respostas semelhantes entre si, sendo os melhores resultados de crescimento em altura na saída da casa de sombra encontrados com doses a partir de 0,80 mg L⁻¹ de triptofano.

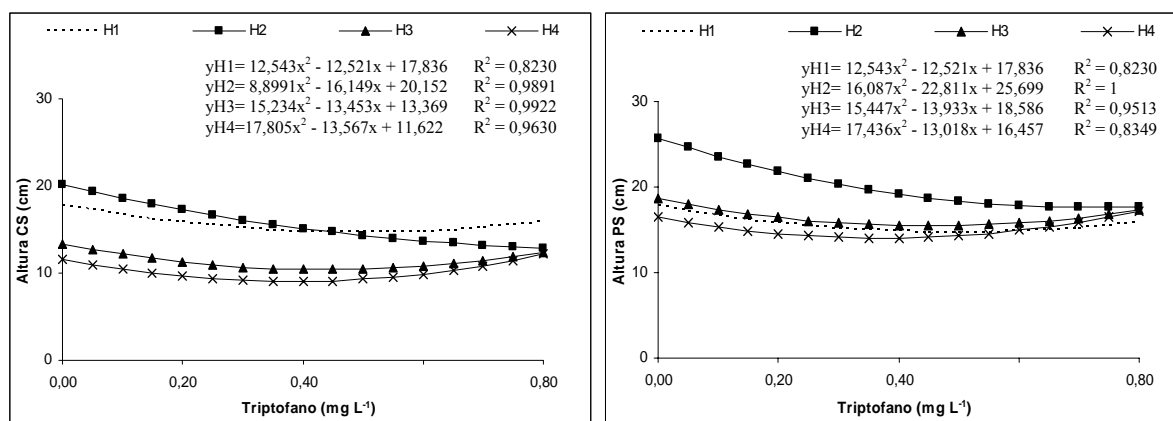


Figura 14 - Altura das miniestacas na saída da casa de sombra e a pleno sol, aos 35 e 50 dias de idade, respectivamente, em função da aplicação do cofator triptofano associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Quanto à altura das miniestacas a pleno sol (Figura 14), observou-se que os clones H1, H3 e H4 comportaram-se de maneira semelhante entre si, apresentando os melhores resultados de crescimento em altura a partir de 0,80 mg L⁻¹ de triptofano. No clone H2, a não-aplicação de triptofano teve os melhores resultados de crescimento em altura das miniestacas a pleno sol.

A hipótese era de que a aplicação de triptofano associado com AIB nas miniestacas promovesse aumento nos índices de enraizamento e sobrevivência, sendo confirmado em todos os clones estudados. Acredita-se que as respostas superiores dos tratamentos utilizando esse aminoácido se devem ao fato de que muitas evidências têm demonstrado que as plantas convertem triptofano em AIA (ácido indolacético), através de várias rotas metabólicas. Tal conversão é importante para no início do desenvolvimento e estabelecimento do eixo raiz-parte aérea das plantas (TAIZ e ZEIGER, 2004).

Conforme alguns autores, o nível de triptofano nas células das plantas é controlado pela sua própria concentração e que existe uma concentração normal desse aminoácido nas células que será provavelmente transformado em auxinas (Wildholm, 1971, citado por DUTRA et al., 2002). Além disso, existe uma correlação positiva entre o nível de auxinas e a porcentagem de enraizamento. Assim, quando o nível endógeno de auxinas é elevado, há maior porcentagem de enraizamento adventício (Gaspar et al., 1988, citados por DUTRA et al., 2002). Não obstante, LIMA (1998) verificou que o triptofano não influenciou o porcentual de enraizamento, apresentando, entretanto, efeito positivo no número de raízes das plântulas de *Eucalyptus grandis*. ORLIKOWSKA (1992) também relatou aumento no número de raízes em estacas de macieira, ao utilizar alguns aminoácidos, dentre eles o triptofano.

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados, conclui-se que as respostas dos clones em relação à aplicação dos cofatores ácido cafeico, ácido clorogênico, fenilalanina, floroglucinol, hidroquinona e triptofano foram diferenciadas. O ácido clorogênico e a hidroquinona melhoraram os índices de enraizamento e sobrevivência nos três clones; a fenilalanina e o floroglucinol exibiram efeito benéfico em dois clones; somente o ácido cafeico, o triptofano e, principalmente, a prolina apresentaram efeito benéfico em todos os clones estudados.

5. REFERÊNCIAS

ABREU, I. N.; MARTINS, M.; PINTO, J. E. B. P. Efeito de compostos fenólicos no enraizamento de microestacas de *Eucalyptus citriodora*, *in vitro*. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL, 1993, Brasília. **Anais**. Brasília: REDBIO, 1993. p. 148.

ASSIS, T.; FETT-NETO, A.G.; ALFENAS, A.C. Current techniques and prospects for the clonal propagation of hardwoods with emphasis on *Eucalyptus*. In: Walters C, Carson M (Eds.). **Plantation Forest Biotechnology for the 21st Century**, Research Signpost, India, 2004. p.303-333.

CABONI, E.; BOUMIS, G.; DAMIANO, C. Effects of phenols, gibberellic acid and carbohydrates on the rooting of the apple rootstock M9 Jork. **Agronomie**, v. 12, n. 10, p. 789-794, 1992.

CAMARA, T. R.; WILLADINO, L.; TORNÉ, J. M.; MANICK, A.; SANTOS, M. A. Efeito do estresse salino e da prolina exógena em calos de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. 2, p.146-155, 2000.

CHALLENGER, S.; LANCEY, H. J.; HOWARD, H. The demonstration of root promoting substances in apple and plum rootstocks. **Ann. Rept. E. Malling Res. Sta.**, p. 124-128, 1965.

DUTRA, L. F.; KERSTEN, E.; FACHINELLO, J. C. Época de coleta, ácido indolbutírico e triptofano no enraizamento de estacas de pessegueiro. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 2, p. 327-333, 2002.

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

HAGGQUIST, M.L.; STRID, K.O.; WIDEL, L.; LILJENBERG, C. Identification of tryptophan in leachate of oat hulls (*Avena sativa*) as mediator of root growth regulation. **Physiologia Plantarum**, v. 72, p. 423-427, 1988.

HAMMATT, N. Promotion by phloroglucinol of adventitious root formation in micropropagated shoots of adult wild cherry (*Prunus avium* L.). **Plant Growth Regulation**, v.14, n. 2, p. 127-132, 1994.

HARE, P.D.; CRESS, W.A. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 21, p. 79–102, 1997.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2002. 880 p.

HESS, C. E. Characterization of the rooting co-factors extracted from *Hedera helix* L. and *Hibiscus rosa-sinensis*. International Horticultural Congress, 16., **Proceedings...1962**. p. 382-388.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. A.; GONÇALVES, A. N. **Propagação vegetativa de *Eucalyptus***: princípios básicos e a sua evolução no Brasil. Piracicaba, SP: IPEF, 2000. 11 p. (Circular Técnica, 192).

IKEMORI, Y. K. **Resultados preliminares sobre enraizamento de estacas de *Eucalyptus* spp.** [S. 1.: s.n.t.], 1975. 12 p. (Informativo Técnico da Aracruz, 1).

LAINE, E.; DAVID, A. Regeneration of plants from leaf explants of micropropagated clonal *Eucalyptus grandis*. **Plant Cell Reports**, v. 13, n. 8, p. 473-476, 1994. CD-ROM.

LIMA, C. C. M. **Uso de aditivos e cofatores na rizogênese de plântulas de *Eucalyptus grandis* Hill in vitro**. Piracicaba, SP: ESALQ/USP, 1998. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais).

LOPES, L. C.; BARBOSA, J. G. **Propagação de plantas ornamentais**. Viçosa, MG: UFV, 1988. 30 p. (Boletim, 267).

MARZIAH, M.; IYER, K. D. N.; MUSE, R.; YOU, C. B.; CHEN, Z. L.; DING, Y. Production of polyphenols in cultured tissues of cocoa, *Theobroma cacao*. In: Asia-Pacific Conference on Agriculture Biotechnology, 1., 1993. **Proceedings**. (Abstracts on CD-ROM).

MATTOS, E. B. **Enraizamento in vitro de brotações de macieira (*Malus domestica* Borkh), cvs. Golden Delicious e Gala e porta-enxerto MM-106**. Pelotas, RS:UFPel, 1982. 45 f. Dissertação (Mestrado).

NORBERTO, P. M. **Efeitos da época de poda, cianamida hidrogenada, irrigação e ácido indolbutírico na colheita antecipada e enraizamento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.)**. Lavras, MG: UFLA, 1999. 89 f. Dissertação (Mestrado).

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Jaboticabal, SP: Funep, 1996. 81 p.

ORLIKOWSKA, T. Influence of arginine on *in vitro* rooting of dwarf apple rootstock. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 31, p. 9-14, 1992.

RIBAS, K. C. **Interações entre auxina e cofatores do enraizamento na promoção do sistema radicular em estacas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden.** Botucatu, SP: UNESP, 1997, 150 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas).

RODRIGUES, A. C.; ANGRA, D. C.; SANTOS, R. R.; FORTES, G. R. L.; FILHO, B. G. S. Influência do ácido indolbutírico e floroglucinol no enraizamento *in vitro* de brotações de macieira (*Malus domestica*, Borkh). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 5, n. 1, p.101, 1993.

RUFATO, L.; MEYER, G. A.; BIANCHI, V. J.; FACHINELLO, J. C. Enraizamento de estacas lenhosas de cultivares de marmeleiro (*Cydonia oblonga*) tratadas com floroglucinol. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 3, p. 742-744, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p. (Tradução).

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

VAZ, R. L.; NEGUEROLES, J. **Micropropagação e influência do tempo de permanência em meio contendo floroglucinol no enraizamento de brotos apicais de pessegueiro e macieira.** Goiânia, GO: EGOPA, 1979, 6 p. (Comunicado Técnico, 17).

WENDLING, I. **Propagação clonal de híbridos de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia.** Viçosa, MG: UFV, 1999. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal).

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, 2000.

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

ZANOL, G. C.; FORTES, G. R. L.; CAMPOS, A. D.; SILVA, J. B.; CENTELLAS, A. Q. Enraizamento *in vitro* e atividade da peroxidase do porta enxerto de macieira Marubakaido tratado com ácido indolbutírico e floroglucinol. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 10, n. 1, p. 65-68, 1998.

EFEITO DE ANTIOXIDANTES NO ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE CLONES DE *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*

RESUMO – Este estudo teve como objetivo avaliar a eficiência dos antioxidantes ácido ascórbico, carvão ativado e polivinilpirrolidona (PVP) no enraizamento de miniestacas de quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. As miniestacas foram coletadas em minijardim clonal conduzido em sistema de hidroponia em canaletas. Experimentalmente, foram testadas cinco concentrações de ácido ascórbico, quatro concentrações de carvão ativado e sete concentrações de PVP, nos quatro clones estudados. Foram realizadas avaliações quanto ao percentual de enraizamento e crescimento das miniestacas enraizadas em casa de vegetação, casa de sombra e pleno sol. Concluiu-se que a utilização do ácido ascórbico e do carvão ativado foram mais eficientes em apenas um clone, no entanto o PVP mostrou-se eficiente na maximização do enraizamento das miniestacas em todos os clones avaliados.

Palavras-chave: Miniestaquia, estaquia, propagação vegetativa e silvicultura clonal.

EFFECT OF ANTIOXIDANTS ON THE ROOTING OF MINICUTTINGS OF *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* CLONES

ABSTRACT – The objective of the present work was to evaluate the efficiency of the antioxidants ascorbic acid, activated carbon and polyvinylpyrrolidone (PVP) on the rooting of minicuttings of four clones of *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. The minicuttings were collected in a clonal minigarden carried on a hydroponic system in small gutters. Experimentally, five concentrations of ascorbic acid, four concentrations of activated carbon and seven concentrations of PVP were tested, for the four clones studied. Evaluation of the rooting percentage and growth of the rooted minicuttings were made in a greenhouse, a shade house and in the open sun. It was concluded that the used of ascorbic acid and activated carbon were more efficient for only one clone; however, the PVP showed to be efficient in the maximization of the rooting of all the minicuttings for all of the clones evaluated.

Keywords: Minicutting, stem-cutting rooting, vegetative propagation and clonal silviculture.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem-se verificado um constante aumento do interesse pela silvicultura clonal de espécies florestais, visando, principalmente, à uniformização dos plantios, maior produtividade, qualidade tecnológica da madeira e adaptação dos clones à área a ser implantada, aliado a um custo competitivo. O conhecimento das melhores técnicas de propagação vegetativa, aliadas às substâncias que promovem aumento no enraizamento, contribui para a melhor utilização da espécie com ganhos de produtividade (XAVIER, 2002).

A formação de raízes em estacas é um processo complexo, tanto do ponto de vista anatômico quanto fisiológico. A presença de carboidratos, proteínas, aminoácidos, vitaminas, compostos fenólicos e outras substâncias ainda não identificadas contribuem, além das auxinas, para a iniciação de raízes adventícias, quando combinados em concentrações e proporções adequadas (ONO e RODRIGUES, 1996).

Segundo HARTMANN et al. (2002), as plantas superiores, em condições adequadas, produzem várias substâncias denominadas metabólitos secundários, as quais, em sua maioria, são de natureza fenólica. Segundo esses mesmos autores, a liberação de compostos fenólicos ocorre devido ao dano causado nas células durante a excisão dos propágulos vegetativos. Apesar de a oxidação de compostos fenólicos ser prejudicial às miniestacas, essas substâncias são essenciais às plantas, visto a importante função de regular a oxidação do AIA (ácido indolacético), principal auxina encontrada naturalmente nas plantas.

Vários estudos foram realizados com a finalidade de encontrar possíveis relações entre o potencial rizogênico dos propágulos e os compostos fenólicos. No início, ressaltava-se o efeito inibitório dos fenóis sobre a formação de raízes (KEFELI e KADYRON, 1971). Com o avanço das pesquisas, HAISSIG (1974) sugeriu que a formação de primórdios radiculares necessitava de conjugados AIA-fenóis, sintetizados com a participação de enzimas, como polifenol oxidases e peroxidases. Já DEBERGH e READ (1991) descobriram que um grupo especial de compostos fenólicos são protetores das auxinas por atuarem como antioxidantes, inibindo a oxidação do AIA.

Outras pesquisas têm indicado que, em geral, monofenóis e m-difenóis estimulam a oxidação do AIA, enquanto o-difenóis, p-difenóis e polifenóis inibem essa reação (LEE et al., 1982), bem como a não-relação do conteúdo de fenóis totais sobre o número de raízes em plantas de *Castanea sativa* (apresentou bom enraizamento) e *Salix viminalis* (apresentou baixo enraizamento), encontrado por GESTO et al. (1977) e a correlação positiva entre o enraizamento e o conteúdo de fenóis orto-dihidróxi e totais em espécies do gênero *Prunus*

(RANA e CHADHA, 1989). Assim, WILSON e VAN STADEN (1990) constataram que a capacidade de alguns compostos fenólicos de estimular a formação de raízes adventícias se deve a uma possível ação protetora que exercem sobre o AIA, em consequência da inibição da AIA-oxidase e reações de oxidação em geral, mantendo a célula em estado reduzido e permitindo a divisão celular. O tipo e a quantidade desses cofatores determinam, parcialmente, se as estacas possuem maior ou menor facilidade para induzir os primórdios radiculares.

Alguns procedimentos para a redução da oxidação fenólica podem ser adotados, como: a utilização de substâncias antioxidantes, redução dos danos mecânicos e químicos causados, lavagem dos propágulos vegetativos em água corrente, utilização de meios básicos mais diluídos e remoção de substâncias fenólicas, entre outros (WENDLING, 2002).

Quanto ao efeito do antioxidante, este consiste na inativação dos radicais livres, na complexação de íons metabólicos ou na redução dos peróxidos para produtos incapazes de formar radicais livres com potencial de se oxidar (ARAÚJO, 1985). Dentre as substâncias com efeito antioxidante, podem-se citar ácido ascórbico, ácido cítrico, polivinilpirrolidona (PVP), carvão ativado, L-cisteína, ditiotreitól, tiuréia, água de coco e albumina de soro bovino. Essas substâncias podem atuar inibindo a síntese ou a ação de enzimas ligadas à oxidação dos polifenóis ou agir como adsorventes dessas substâncias.

O carvão ativado e o PVP são considerados compostos adsorventes. O primeiro apresenta cargas residuais, as quais são capazes de adsorver substâncias fenólicas ou seus produtos da oxidação, como as quinonas; o PVP é uma poliamida utilizada em cromatografia de separação de ácidos aromáticos, aldeídos e fenóis pela sua função adsorvente (TEIXEIRA, 2004). Segundo esse mesmo autor, os fenóis são adsorvidos pelo PVP, por meio de ligações de hidrogênio, o que previne a oxidação e polimerização, além de adsorver os produtos da oxidação fenólica, ou seja, as quinonas.

O carvão ativado age promovendo a adsorção dos exsudatos liberados pelo explante, os quais provocam a oxidação. Também possui as propriedades de adsorver e reduzir a disponibilidade de auxina exógena no meio de cultura, induzindo a rizogênese (TAIZ e ZEIGER, 2004). O PVP reage com os compostos oxidantes e, de acordo com CORDEIRO (2002), o efeito principal do PVP no meio de cultura está relacionado com a capacidade de inibir a liberação de compostos fenólicos. Os ácidos cítrico e ascórbico reagem com os metais presentes no meio de cultura, evitando que estes fiquem disponíveis para se oxidarem (ARAÚJO, 1985; TAIZ e ZEIGER, 2004). De acordo com ZIV e HALEVY (1983), o ácido

ascórbico e o ácido cítrico, em solução aquosa, reduzem a oxidação em explantes de *Strelitzia* spp.

Este estudo objetivou avaliar o efeito dos antioxidantes PVP, ácido ascórbico e carvão ativado no enraizamento de miniestacas de quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material experimental

Foram utilizados quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* provenientes da empresa International Paper do Brasil, localizada no Município de Mogi Guaçu, São Paulo. O clima dessa região é do tipo Cwa (tropical, úmido e mesotérmico), segundo a classificação de Köppen, com latitude de 22°21'S, longitude de 48°58'W e altitude média de 639 m. Apresenta precipitação média anual de 1.317 mm e temperatura média anual de 21 °C, com máxima média de 24 °C e mínima média de 16 °C.

Para a seleção desses clones foram considerados os percentuais de área plantada e de enraizamento desses materiais genéticos, dados esses fornecidos pelo Departamento de Pesquisa da referida empresa.

A partir de plantas obtidas pela técnica de miniestaquia, o minijardim clonal foi instalado no Viveiro Experimental da International Paper do Brasil, localizado em condições cobertas, constituído pelos quatro clones em estudo (H1, H2, H3 e H4).

2.2. Manejo do minijardim clonal

Conforme a técnica de miniestaquia (XAVIER e WENDLING, 1998; HIGASHI et al., 2000 e ASSIS et al., 2004) e de acordo com os procedimentos de manejo adotados pela empresa, o minijardim clonal foi constituído de minicepas, obtidas pelo enraizamento de miniestacas oriundas de brotações de plantas propagadas pelo método da microestaquia. 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 miniestacas (brotações) para a realização do experimento.

O sistema de manejo do minijardim clonal adotado foi o utilizado comercialmente pela empresa e composto por canaletas de alumínio revestidas com fibra de vidro, sobre as quais

permaneceram as minicepas, plantadas em tubetes dispostos em bandejas de isopor cobertas por plástico dupla fase. A irrigação e a nutrição mineral foram efetuadas através do sistema automatizado de fertirrigação por inundação, de maneira que somente o sistema radicular permanecia em contato com a solução nutritiva. A cada uma hora o sistema era acionado, irrigando por um período de 20 minutos e atingindo cerca de 6 cm de altura do tubete. Após esse período, a canaleta era esvaziada e a solução nutritiva retornava à caixa de armazenagem da solução, sendo esta trocada a cada sete dias e, diariamente, eram mensurados a Ec (condutividade elétrica, usada para medir a quantidade de sais presentes em solução) e o pH da solução. Nesse período, a Ec variou de 2,00 a 2,40 mS cm⁻¹ e o pH, de 3,05 a 5,76. Em 500 litros de solução nutritiva, adicionaram-se 20 g de nitrato de amônio, 200 g de nitrato de cálcio, 108 g de sulfato de amônio, 60 g de micronutrientes obtidos pelo produto Quelatec AZ[®] e 740 g de Phytus Super K[®]. O Quelatec AZ[®] constitui-se de um quelato solúvel de micronutrientes, composto por ferro, manganês, zinco e cobre na forma quelatada e por boro e molibdênio na forma mineral. Já o Phytus Super K[®] foi constituído de um fertilizante composto por NPK (00:40:20).

2.3. Obtenção, preparo, plantio e enraizamento das miniestacas

As miniestacas foram coletadas no minijardim clonal e acondicionadas em caixas de PVC transparente, mantidas fechadas. Para manter as condições de turgescência do material vegetativo, pulverizou-se água, utilizando uma bomba costal, em intervalos de 10 minutos, até a etapa de enraizamento, quando, então, as miniestacas foram preparadas com dimensões variando de 5 a 7 cm de comprimento e com um par de folhas, tendo a área foliar sido reduzida à metade de sua dimensão original.

Após o preparo das miniestacas, estas foram tratadas com os antioxidantes ácido ascórbico, carvão ativado e PVP associados com 500 mg L⁻¹ de AIB para, posteriormente, serem plantadas e colocadas para enraizamento na casa de vegetação. Foram utilizadas as seguintes concentrações dos antioxidantes ácido ascórbico (0, 5, 10, 20 e 40 mg L⁻¹), carvão ativado (0, 500, 1.000 e 2.000 mg L⁻¹) e PVP (0, 500, 1.000, 2.000, 4.000, 8.000 e 16.000 mg L⁻¹), via líquido, dissolvidos em solução de AIB a 500 mg L⁻¹ (ácido indolbutírico – Merck S.A. – dissolvido em KOH a 1 mol L⁻¹ diluído em água destilada autoclavada). As miniestacas tiveram suas bases (2 cm) mergulhadas na solução de antioxidante + AIB por um período de 15 segundos, antes de serem plantadas no substrato.

O período compreendido entre o preparo das miniestacas, seus tratamentos com os cofatores e plantio no substrato, na casa de vegetação, foi sempre inferior a 30 minutos.

No enraizamento das miniestacas utilizaram-se como recipientes tubetes plásticos de 55 cm³ de capacidade, contendo substrato constituído de partes iguais de vermiculita de granulometria fina e casca de arroz carbonizada. A nutrição mineral utilizada no substrato foi composta por 4,00 kg m⁻³ de Fosmag 500B (MANAH, São Paulo) composto por 4% de N, 14% de P, 7% de K, 14% de Ca, 9% de S, 2% de Mg e 0,5% de B; 5,40 kg m⁻³ de NPK (32:00:03) e 3,06 kg m⁻³ de cloreto de potássio.

O processo de enraizamento das miniestacas foi conduzido em casa de vegetação climatizada (umidade relativa do ar \geq 80% e temperatura em torno de 27 °C) com permanência de 25 dias. Posteriormente, as miniestacas foram transferidas para casa de sombra (permanência de 10 dias para aclimatização) e, finalmente, a pleno sol até completarem 50 dias de idade.

Foram instalados experimentos independentes dos diferentes tipos de antioxidantes testados, os quais seguiram o delineamento experimental inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 5 x 4 para ácido ascórbico (constituído de cinco doses), fatorial 4 x 4 para carvão (constituído de quatro doses) e fatorial 7 x 4 para PVP (constituído de sete doses), considerando-se os quatro clones em estudo (H1, H2, H3 e H4), em quatro repetições e parcelas compostas de 16 plantas/repetição.

2.4. Avaliações experimentais

As avaliações das plantas foram realizadas quanto ao percentual de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (aos 25 dias de idade), percentual de enraizamento e altura das miniestacas na saída da casa de sombra (aos 35 dias de idade). Aos 50 dias de idade a pleno sol, avaliaram-se o percentual de sobrevivência, a altura, o diâmetro de colo e a massa da matéria seca da parte aérea e da raiz das miniestacas enraizadas.

As avaliações de altura, diâmetro de colo, massa da matéria seca da parte aérea e do sistema radicular foram realizadas em quatro miniestacas/repetição selecionadas ao acaso em cada tratamento.

Os dados resultantes foram submetidos às análises de variância e regressão, utilizando-se os programas Statistica e Excel.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Eficiência do ácido ascórbico no enraizamento adventício

Com base nos resultados da análise de variância das características avaliadas (Quadro 1), observou-se efeito significativo, pelo teste F ($P < 0,05$), da interação “clone x tratamento” sobre todas as características avaliadas, indicando respostas diferenciadas dos clones em relação ao antioxidante e aos tratamentos adotados.

Quadro 1 - Resultados da análise de variância das características de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (SOBCV), do percentual de enraizamento (ENRCS) e altura (ALTCS) das miniestacas na saída da casa de sombra; e da sobrevivência (SOB50), altura (ALT50), diâmetro de colo (DC50) e da massa de matéria seca da parte aérea (PSPA) e do sistema radicular (PSR) das plantas aos 50 dias de idade, em função das concentrações do antioxidante ácido ascórbico associado a 500 mg L^{-1} de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios							
		SOBCV (%)	ENRCS (%)	ALTCS (cm)	SOB50 (%)	ALT50 (cm)	DC50 (mm)	PSPA (g)	PSR (g)
Clone (C)	3	2532,55*	10103,35*	3840,01*	11901,71*	4494,01*	15,67*	145,40*	19,65*
Trat. (T)	4	506,10*	2799,07*	126,02*	2235,62*	129,50*	0,60 ^{ns}	1,68 ^{ns}	1,14 ^{ns}
C*T	12	600,18*	1527,91*	98,70*	1263,31*	103,94*	0,89*	13,68*	1,55*
Resíduo	60	111,00	98,47	49,63	111,00	50,44	0,44	4,56	0,57
Média Geral	-	91,3	70,7	31,3	66,1	34,5	2,9	6,4	1,9
CV _{exp} (%)	-	18,9	19,8	25,7	23,9	24,1	26,0	22,1	22,7

^{“ns”} e ^{“*”} = não-significativo e significativo, respectivamente, a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Os coeficientes de variação experimental encontrados variaram de 18,9 até 26,0%, evidenciando-se razoável precisão experimental em relação às características estudadas, de acordo com os valores encontrados na literatura (RIBAS, 1997; WENDLING et al., 2000; TITON, 2001).

Nos clones H1 e H4, a aplicação de ácido ascórbico não influenciou significativamente a sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação, sendo observada no clone H4 uma tendência de decréscimo dos percentuais a partir da dose de 20 mg L^{-1} de ácido ascórbico (Figura 1). No clone H2, a não-aplicação de ácido ascórbico apresentou os melhores resultados, e no clone H3 os melhores resultados de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação foram obtidos com a aplicação de 40 mg L^{-1} de ácido ascórbico.

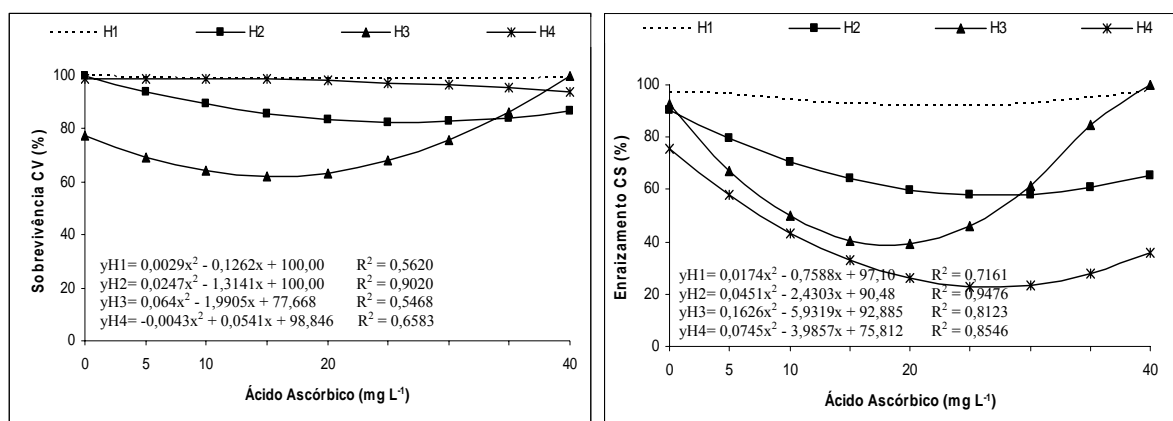


Figura 1 - Sobrevivência e enraizamento das miniestacas na saída da casa de vegetação e na saída da casa de sombra, aos 25 e 35 dias de idade, respectivamente, em função da aplicação do antioxidante ácido ascórbico associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Ao analisar o enraizamento adventício na saída da casa de sombra (Figura 1), observou-se que os clones H1, H2 e H3 apresentaram resultados semelhantes aos resultados encontrados na saída da casa de vegetação. No entanto, no clone H4 a não-aplicação de ácido ascórbico apresentou os melhores resultados de enraizamento adventício na saída da casa de sombra.

Quanto à altura das miniestacas na saída da casa de sombra (Figura 2), observou-se que no clone H1 os melhores resultados de crescimento das miniestacas foram obtidos com doses entre 20 e 40 mg L⁻¹ de ácido ascórbico. No clone H2, a não-aplicação de ácido ascórbico apresentou os melhores resultados de crescimento em altura das miniestacas. Já nos clones H3 e H4 observou-se tendência dos melhores resultados de crescimento em altura das miniestacas na saída da casa de sombra a partir de 40 mg L⁻¹ de ácido ascórbico.

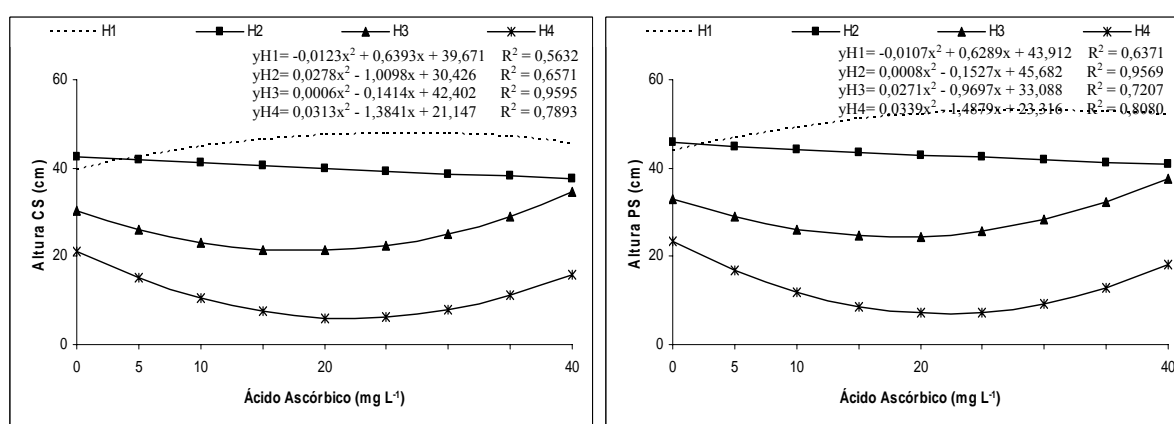


Figura 2 - Altura das miniestacas na saída da casa de sombra e a pleno sol, aos 35 e 50 dias de idade, respectivamente, em função da aplicação do antioxidante ácido ascórbico associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

No clone H1, os melhores resultados de altura das miniestacas a pleno sol (Figura 2) foram observados a partir da aplicação de 10 mg L⁻¹ de ácido ascórbico. Já os clones H2, H3 e H4 apresentaram resultados de crescimento em altura das miniestacas a pleno sol, semelhante aos resultados encontrados na saída da casa de sombra.

Quanto à sobrevivência das plantas a pleno sol, aos 50 dias (Figura 3) observou-se que nos clones H1, H2 e H4 os melhores resultados foram obtidos com a não-aplicação de ácido ascórbico. No entanto, no clone H3 os melhores resultados de sobrevivência das plantas a pleno sol foram obtidos com a aplicação de doses a partir de 40 mg L⁻¹ de ácido ascórbico. Segundo WENDLING (2002), a sobrevivência das plantas aos 50 dias de idade é uma avaliação que já mostra efeitos mais drásticos do ambiente, sendo mais fácil à ocorrência de diferenças entre os tratamentos e clones.

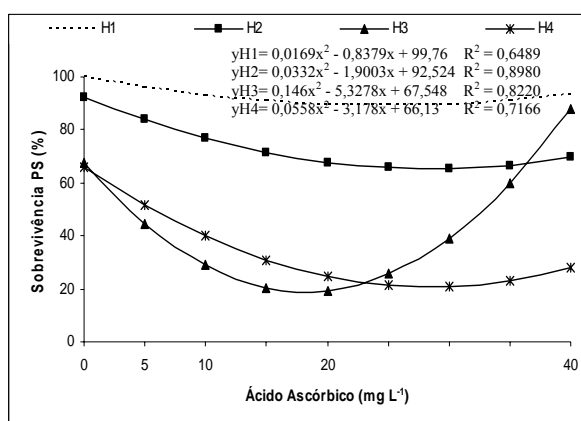


Figura 3 – Sobrevivência das miniestacas a pleno sol, aos 50 dias de idade, em função da aplicação do antioxidante ácido ascórbico associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Não se observaram diferenças estatísticas entre os tratamentos dos clones estudados em relação às características de diâmetro de colo e peso de matéria seca da parte aérea e da raiz das plantas a pleno sol (Quadro 1).

A hipótese era de que a aplicação, nas miniestacas, de ácido ascórbico, associado ao AIB, promovesse aumento nos índices de enraizamento e sobrevivência, o que foi confirmado apenas no clone H3. Nos três outros clones, a utilização desse antioxidante não foi favorável.

HOFFMANN et al. (1995), trabalhando com estacas de mirtilo (frutífera de clima temperado), não verificaram o efeito do ácido ascórbico associado ao AIB no enraizamento. Não foram encontrados na literatura trabalhos que utilizaram ácido ascórbico no tratamento de estacas de *Eucalyptus* spp..

O ácido ascórbico, de forma geral, mostrou-se benéfico como cofator do AIB em apenas um clone a partir da dose de 40 mg L⁻¹. Nos demais clones, a utilização desse antioxidante não melhorou os índices de enraizamento e de sobrevivência das miniestacas.

3.2. Eficiência do carvão ativado no enraizamento adventício

Com base nos resultados da análise de variância das características avaliadas (Quadro 2), observou-se efeito significativo, pelo teste F (P < 0,05), da interação “clone x tratamento” sobre algumas das características avaliadas, indicando respostas diferenciadas dos clones em relação ao antioxidante e aos tratamentos adotados.

Quadro 2 – Resultados da análise de variância das características de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (SOBCV); do percentual de enraizamento (ENRCS) e altura (ALTCS) das miniestacas na saída da casa de sombra; e da sobrevivência (SOB50), altura (ALT50), diâmetro de colo (DC50) e da massa de matéria seca da parte aérea (PSPA) e do sistema radicular (PSR) das plantas aos 50 dias de idade, em função das concentrações de carvão ativado associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios							
		SOBCV (%)	ENRCS (%)	ALTCS (cm)	SOB50 (%)	ALT50 (cm)	DC50 (mm)	PSPA (g)	PSR (g)
Clone (C)	3	31,53 ^{ns}	2318,32*	4156,96*	3698,53*	4965,93*	21,81*	195,05*	27,82*
Trat. (T)	3	34,79 ^{ns}	1916,30*	93,75*	1782,84*	142,07*	1,92*	13,52 ^{ns}	2,53 ^{ns}
C*T	9	42,39 ^{ns}	651,11*	79,72*	663,05*	68,10*	0,37 ^{ns}	4,89 ^{ns}	1,38 ^{ns}
Resíduo	48	33,16	146,69	24,52	156,86	30,67	0,25	3,76	1,68
Média Geral	-	97,4	79,8	31,1	73,3	34,1	2,7	6,7	2,1
CV _{exp} (%)	-	6,0	25,3	29,0	29,7	28,7	22,7	24,8	20,3

^{“ns”} e ^{“*”} = não-significativo e significativo, respectivamente, a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Os coeficientes de variação experimental encontrados variaram de 6,0 até 29,7%, evidenciando-se razoável precisão experimental em relação às características estudadas, de acordo com os valores encontrados na literatura (RIBAS, 1997; WENDLING et al., 2000; TITON, 2001).

O comportamento dos clones H1, H2, H3 e H4 foi semelhante entre si, quanto ao enraizamento das miniestacas na saída da casa de sombra (Figura 4), sendo que a não-aplicação de carvão ativado apresentou os melhores resultados.

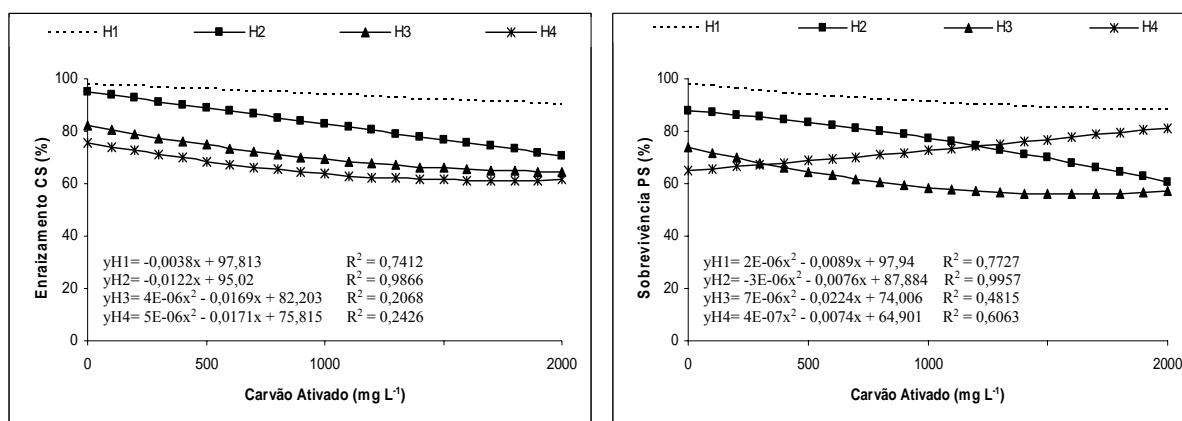


Figura 4 – Enraizamento e sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação e a pleno sol, aos 35 e 50 dias de idade, respectivamente, em função da aplicação do antioxidante carvão ativado associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Quanto à sobrevivência das miniestacas a pleno sol (Figura 4), observou-se que o comportamento dos clones H1, H2 e H3 foi semelhante aos resultados encontrados na saída da casa de sombra, sendo que a não-aplicação de carvão ativado apresentou os melhores resultados. Já no clone H4 a aplicação de doses crescentes de carvão ativado foi benéfica para o aumento nos índices de sobrevivência das miniestacas a pleno sol, em que se verificaram os melhores resultados a partir de 2.000 mg L⁻¹ de carvão ativado.

Em relação à altura das miniestacas na saída da casa de sombra (Figura 5), notou-se que, nos clones H1 e H3, os melhores índices de crescimento em altura foram obtidos com a não-aplicação de carvão ativado, e no clone H2 a aplicação de doses entre 1.000 e 2.000 mg L⁻¹ de carvão ativado apresentou os melhores resultados. Já no clone H4 se observou tendência de acréscimo nos índices de crescimento em altura das miniestacas na saída da casa de sombra com o aumento das doses de carvão ativado, sendo que doses a partir de 2.000 mg L⁻¹ de carvão ativado apresentaram os melhores resultados. Os resultados de altura das miniestacas a pleno sol (Figura 5) foram semelhantes aos observados na saída da casa de sombra.

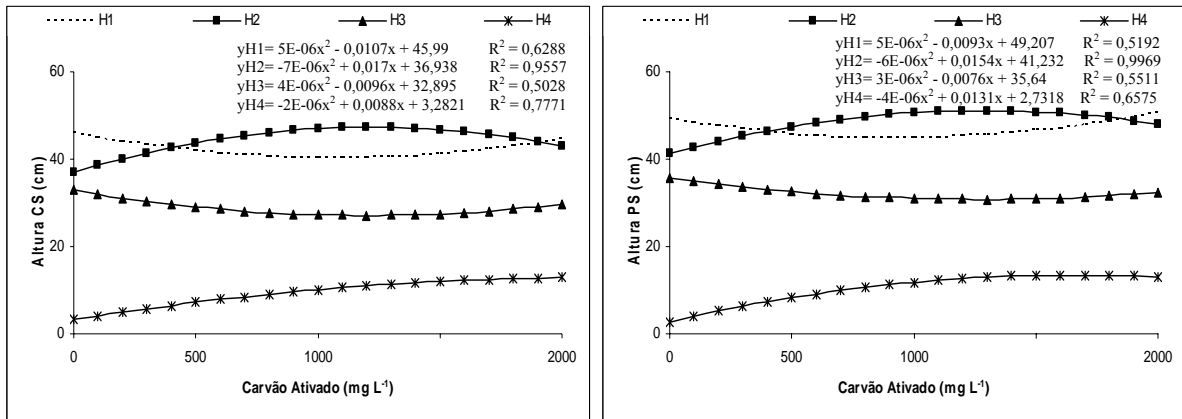


Figura 5 – Altura das miniestacas na saída da casa de sombra e a pleno sol, aos 35 e 50 dias de idade, respectivamente, em função da aplicação do antioxidante carvão ativado associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Quanto ao diâmetro de colo das miniestacas (Figura 6), observou-se que o clone H1 apresentou os maiores índices de crescimento de diâmetro de colo das miniestacas em relação aos clones estudados, sendo os melhores resultados, semelhantemente ao clone H2, obtidos a partir de 2.000 mg L⁻¹ de carvão ativado. No clone H3, a aplicação de carvão ativado não exibiu resultados significativos dos índices de crescimento de diâmetro de colo das miniestacas. O clone H4 teve os melhores índices de crescimento de diâmetro de colo das miniestacas com a aplicação de doses entre 1.000 e 2.000 mg L⁻¹ de carvão ativado.

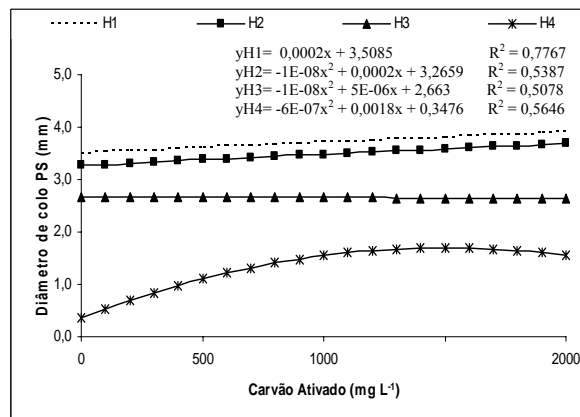


Figura 6 – Diâmetro de colo das miniestacas a pleno sol, aos 50 dias de idade, em função da aplicação do antioxidante carvão ativado associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Não se observaram diferenças estatísticas entre os tratamentos dos clones estudados em relação às características de sobrevivência na saída da casa de vegetação e peso de matéria seca da parte aérea e da raiz das plantas a pleno sol (Quadro 2).

A hipótese era de que a aplicação, nas miniestacas, de carvão ativado, associado ao AIB, promovesse aumento nos índices de enraizamento e sobrevivência, sendo confirmado apenas no clone H4. Nos três outros clones, a utilização desse antioxidante não melhorou os índices de enraizamento e sobrevivência.

Na literatura revisada não foram encontrados trabalhos que utilizassem carvão ativado no tratamento de estacas de *Eucalyptus* spp. O trabalho de BERARDI et al. (1993), com plântulas de *Pyrus calleryana*, indicou que o enraizamento *in vitro* foi promovido pelo AIB e ANA, sendo que o carvão ativado associado ao AIB não apresentou efeito benéfico. ERIG et al. (2004) também verificaram que a utilização de carvão ativado no meio de cultura não favoreceu o enraizamento das microestacas de pereira, provavelmente, devido à retenção de auxinas, diminuindo, assim, o seu efeito. Já no louro-pardo (*Cordia trichotoma*) o meio de cultura suplementado com AIB e carvão ativado apresentou o melhor percentual de enraizamento das brotações (MANTOVANI et al., 2001).

O carvão ativado, de forma geral, mostrou-se benéfico como cofator do AIB em apenas um clone a partir de 2.000 mg L⁻¹ de carvão ativado.

3.3. Eficiência do PVP no enraizamento adventício

Com base nos resultados da análise de variância das características avaliadas (Quadro 3), observou-se efeito significativo, pelo teste F ($P < 0,05$), da interação “clone x tratamento” na maioria das características avaliadas, indicando respostas diferenciadas dos clones em relação ao antioxidante e aos tratamentos adotados.

Quadro 3 – Resultados da análise de variância das características de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (SOBCV); do percentual de enraizamento (ENRCS) e altura (ALTCS) das miniestacas na saída da casa de sombra; e da sobrevivência (SOB50), altura (ALT50), diâmetro de colo (DC50) e da massa de matéria seca da parte aérea (PSPA) e do sistema radicular (PSR) das plantas aos 50 dias de idade, em função das concentrações de PVP associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios							
		SOBCV (%)	ENRCS (%)	ALTCS (cm)	SOB50 (%)	ALT50 (cm)	DC50 (mm)	PSPA (g)	PSR (g)
Clone ©	3	344,12*	11435,43*	4505,80*	14042,39*	5652,54*	17,03*	212,68*	21,18*
Trat. (T)	6	108,93 ^{ns}	858,91*	48,92 ^{ns}	750,67*	62,83*	0,50 ^{ns}	4,33 ^{ns}	0,25 ^{ns}
C*T	18	243,48*	917,04*	69,17*	859,34*	84,43*	0,54*	7,10*	0,57 ^{ns}
Resíduo	84	75,10	141,49	24,40	158,23	24,32	0,21	3,53	0,51
Média Geral	-	95,5	75,1	32,6	71,0	35,6	2,9	6,8	1,9
CV _{exp} (%)	-	11,1	22,9	28,1	26,7	28,5	29,5	26,3	23,9

^{“ns”} e ^{“*”} = não-significativo e significativo, respectivamente, a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Os coeficientes de variação experimental encontrados variaram de 11,1 até 29,5%, evidenciando-se razoável precisão experimental em relação às características estudadas, de acordo com os valores encontrados na literatura (RIBAS, 1997; WENDLING et al., 2000; TITON, 2001).

Não se observaram diferenças estatísticas entre os tratamentos dos clones estudados em relação às características de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação, altura na saída da casa de sombra, diâmetro de colo e peso de matéria seca da parte aérea e da raiz das plantas a pleno sol (Quadro 3).

Analisando os resultados de enraizamento na saída da casa de sombra (Figura 7), observou-se que no clone H1 a utilização de PVP não influenciou o enraizamento das miniestacas. Os melhores resultados de enraizamento no clone H2 foram com a aplicação de doses superiores a 8.000 mg L⁻¹ de PVP, no clone H3 com a aplicação de até 4.000 mg L⁻¹ de PVP e no clone H4 com a aplicação de doses entre 4.000 e 8.000 mg L⁻¹ de PVP. Entretanto, em todos os clones os coeficientes de determinação (R²) nas análises de regressão apresentaram valores extremamente baixos, não denotando confiabilidade das equações de regressão para explicar as respostas de enraizamento das miniestacas na saída da casa de sombra.

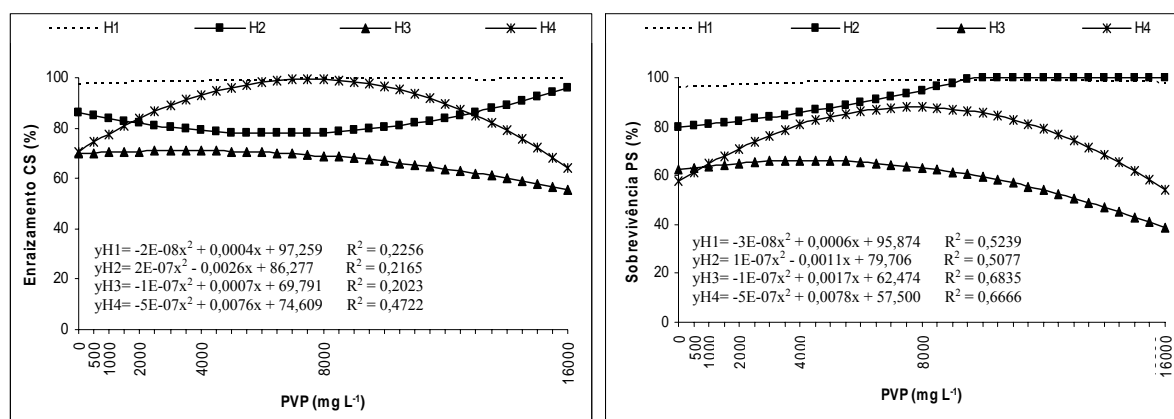


Figura 7 – Enraizamento e sobrevivência das miniestacas na saída da casa de sombra e a pleno sol, aos 35 e 50 dias de idade, respectivamente, em função da aplicação do antioxidante PVP associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Quanto à sobrevivência das miniestacas a pleno sol (Figura 7), observou-se que nos clones H1 e H2 os melhores resultados foram obtidos a partir da aplicação de 8.000 mg L⁻¹ de PVP. No clone H3, os melhores índices de sobrevivência das miniestacas a pleno sol foram obtidos aplicando-se até 4.000 mg L⁻¹ de PVP e para o clone H4, entre 4.000 e 8.000 mg L⁻¹ de PVP.

Na Figura 8, observa-se no clone H1 tendência de que doses a partir de 16.000 mg L⁻¹ de PVP apresentaram os melhores índices de crescimento em altura das miniestacas a pleno sol. Nos clones H2, H3 e H4, a aplicação de doses entre 4.000 e 8.000 mg L⁻¹ de PVP exibiu os melhores resultados. Entretanto, nos clones H1, H2 e H3 os coeficientes de determinação (R²) nas análises de regressão apresentaram valores extremamente baixos, não denotando confiabilidade das equações de regressão para explicar as respostas de altura das miniestacas a pleno sol.

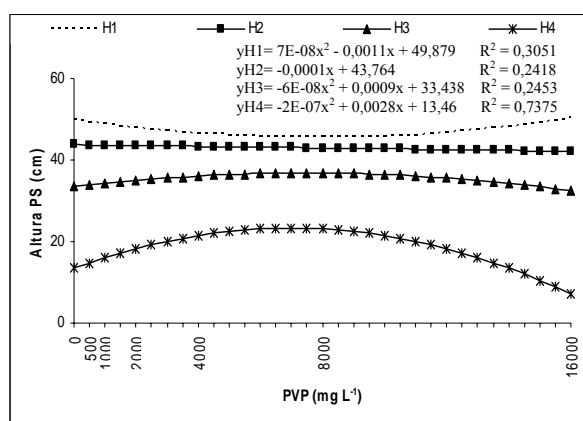


Figura 8 – Altura das miniestacas a pleno sol, aos 50 dias de idade, em função da aplicação do antioxidante PVP associado a 500 mg L⁻¹ de AIB, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

A hipótese era de que a aplicação, nas miniestacas, de PVP, associado ao AIB, promovesse aumento nos índices de enraizamento e sobrevivência, o qual foi confirmado por todos os clones, demonstrando o efeito benéfico deste antioxidante.

Esses resultados confirmam as respostas encontradas por WENDLING et al. (2001), que observaram o efeito positivo da aplicação do PVP nas maiores doses testadas no enraizamento adventício de miniestacas de dois clones de *Eucalyptus grandis*.

4. CONCLUSÕES

Com relação ao objetivo proposto, as respostas dos clones em relação à aplicação dos antioxidantes ácido ascórbico, carvão ativado e PVP foram variadas. O ácido ascórbico e o carvão ativado foram mais eficientes em apenas um clone, no entanto o PVP foi eficiente na maximização do enraizamento das miniestacas em todos os clones estudados.

5. REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa, MG: UFV, 1985. 355 p.
- ASSIS, T.; FETT-NETO, A. G.; ALFENAS, A. C. Current techniques and prospects for the clonal propagation of hardwoods with emphasis on *Eucalyptus*. In: Walters C, Carson M (Eds.). **Plantation Forest Biotechnology for the 21st Century**, Research Signpost, India, 2004. p. 303-333.
- BERARDI, G.; INFANTE, R.; NERI, D. Micropropagation of *Pyrus calleryana* Den. From seedlings. **Scientia Horticulturae**, v. 53, p. 157-165, 1993.
- CORDEIRO, I. M. C. C. **Respostas morfogênicas *in vitro* de paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber, ex Ducke)**. Belém, PA: Faculdade de Ciências Agrárias do Pará. 2002. 65 f. (Dissertação de Mestrado).
- DEBERGH, P. C.; READ, P. E. Micropropagation. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. (Eds.). **Micropropagation technology and application**. The Netherlands: Kluwer Academic Publishes, 1991. p. 486.
- ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W.; BRAGA, E. J. B. Enraizamento *in vitro* de pereira (*Pyrus communis* L.) cv. Carrick. **Ciência Rural**, Pelotas, v. 34, n. 1, p. 275-277, 2004.
- GESTO, M. D. V.; VÁZQUEZ, A.; VIEITEZ, E. Rooting substances in water extracts of *Castanea sativa* and *Salix viminalis*. **Physiologia Plantarum**, n. 40, p. 265-268, 1977.
- HAISSIG, B. E. Influences of auxins synergists on adventitious root primordium initiation and development. **New Zealand Journal of Forestry Science**, v. 4, p. 311-323, 1974.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2002. 880 p.
- HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. A.; GONÇALVES, A. N. **Propagação vegetativa de *Eucalyptus*: princípios básicos e a sua evolução no Brasil**. Piracicaba, SP: IPEF, 2000. 11 p. (Circular Técnica, 192).
- HOFFMANN, A.; FACHINELLO, J. C.; SANTOS, A. M. Propagação de mirtilo (*Vaccinium asheireade*) através de estacas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 231-236, 1995.
- KEFELI, V. I.; KADYRON, C. Sh. Natural growth inhibitors, their chemical and physiological properties. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 57, p. 185-196, 1971.
- LEE, T. T.; STARRATT, A. N.; JEVNIKAR, J. J. Regulation of enzymic oxidation of indole-3-acetic acid by phenols: structure-activity relationships. **Phytochemistry**, v. 21, p. 517-523, 1982.
- MANTOVANI, N. C.; FRANCO, E. T. H.; VESTENA, S. Regeneração *in vitro* de Louro-Pardo (*Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 11, n. 2, p. 93-101, 2001.

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Jaboticabal, SP: Funep, 1996. 81 p.

RANA, H. S.; CHADHA, T. R. Studies on the clonal propagation of *Prunus* species and their relationship with some biochemical characters. **Progressive Horticulture**, v. 21, n. 3-4, p. 329-335, 1989. (CD-ROM Abstract).

RIBAS, K. C. **Interações entre auxina e cofatores do enraizamento na promoção do sistema radicular em estacas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden**. Botucatu, SP: UNESP, 1997. 150 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas).

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p. (Tradução).

TEIXEIRA, J. B. **Limitações ao processo de cultivo *in vitro* de espécies lenhosas**. Disponível em: <<http://www.redbio.org.br>> Acessado em: 22 abr. 2004.

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

WENDLING, I. **Propagação clonal de híbridos de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia**. Viçosa, MG: UFV, 1999. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal).

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, 2000.

WENDLING, I.; TITON, M.; XAVIER, A.; SANTOS, G. A.; OLIVEIRA, M. L. **Influência do antioxidante polivinilpirrolidona (PVP) no enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus grandis***. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL, 1., 2001, Santa Maria-RS. 2001. p. 16-29 (CD-ROM).

WENDLING, I. **Rejuvenescimento de clones de *Eucalyptus grandis* por miniestaquia seriada e micropropagação**. Viçosa, MG: UFV, 2002. 98 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal).

WILSON, P. J.; VAN STADEN, J. Rhizocaline, rooting co-factors and the concept of promoters and inhibitors of adventitious rooting – a review. **Annals of Botany**, v. 66, n. 4, p. 479-490, 1990.

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

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

ZIV, M.; HALEVY, A. H. Control of oxidative browning and *in vitro* propagation of *Strelitzia reginae*. **HortScience**, v. 18, p. 434-436, 1983.

EFEITO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO DE MINIESTACAS NO ENRAIZAMENTO DE CLONES DE *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*

RESUMO – Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito do tempo de armazenamento de miniestacas no processo de enraizamento de quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. As miniestacas foram coletadas em minijardim clonal conduzido em sistema de hidroponia em canaletas. O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, em arranjo fatorial 6 x 4, constituído de seis tratamentos (estaqueamento após a coleta e estaqueamento após o armazenamento em câmara fria por 1, 2, 4, 8 e 16 dias) e quatro clones, em quatro repetições e parcelas compostas de 16 plantas/repetição. Foram realizadas avaliações do porcentual de enraizamento e crescimento das miniestacas enraizadas em casa de vegetação, casa de sombra e a pleno sol. Concluiu-se que o plantio das miniestacas logo após a coleta no minijardim clonal foi o que proporcionou melhor resposta ao enraizamento nos quatro clones estudados, sendo observado efeito negativo do armazenamento dos propágulos, mesmo quando realizado por curto período de tempo.

Palavras-chave: Miniestaquia, estaquia, propagação vegetativa e silvicultura clonal.

EFFECT OF STORAGE TIME OF MINICUTTINGS ON THE ROOTING OF *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* CLONES

ABSTRACT – The objective of the present work was to evaluate the effect of the storage time of minicuttings on the rooting process of four clones of *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. The minicuttings were collected in a clonal minigarden carried on in a hydroponic system in small gutters. The experimental design used was of random plots, in a factorial arrangement 6 x 4, constituted by six treatments (cutting after collection, cutting after storage in cold chamber per 1, 2, 4, 8 and 16 days) and four clones, in four repetitions and plots of 16 plants per repetition. Evaluations of the rooting percentage and growth of the rooted minicuttings in a greenhouse, a shade house and in the open sun were made. It was concluded that planting the minicuttings right after the collection in the clonal miniorchard had the best rooting response for the four clones studied and also that there was a negative effect of the storage, even when stored for a short period of time.

Keywords: Minicutting, stem-cutting rooting, vegetative propagation and clonal silviculture.

1. INTRODUÇÃO

Desde sua introdução no Brasil, a propagação clonal de *Eucalyptus* teve grandes avanços, especialmente quanto ao método de produção e coleta de brotações para estaquia, tipos de substratos, recipientes e modelos de casa de vegetação e de aclimatização, sendo que o controle da irrigação, a temperatura e a luminosidade têm-se mostrado fundamentais para o sucesso do enraizamento adventício.

A propagação clonal pode ser influenciada por vários fatores, entre os quais aqueles ligados às plantas (genótipo, tipo de estaca, juvenilidade do propágulo, estado nutricional e balanço hormonal, entre outros) e aqueles ligados às condições ambientais (umidade, temperatura, luz e o substrato para enraizamento das estacas), que de alguma forma podem ser manipulados pelo homem (BERTOLOTTI e GONÇALVES, 1980; HACKETT, 1987; HARTMANN et al., 2002; XAVIER, 2002).

Entre as várias estratégias adotadas para o método da estaquia, destacam-se aquelas relacionadas às práticas culturais da planta-matriz, como adubação e controle fitossanitário, armazenamento prévio ao enraizamento das estacas e à aplicação de reguladores de crescimento, que são primordiais para o sucesso do enraizamento adventício de estacas.

Recomenda-se que o tempo transcorrido entre a coleta, o preparo das estacas e o plantio no substrato deve ser o menor possível. Entretanto, em algumas situações, há necessidade de armazenamento das estacas, em virtude das condições operacionais, como a distância do local de coleta das brotações, o tempo demandado para extração e preparo das estacas, bem como da quantidade de plantas a serem produzidas (ASSIS et al., 1992; ALFENAS et al., 2004).

No armazenamento das estacas, deve-se buscar a minimização do estresse hídrico, prevenção de doenças fúngicas e manutenção das reservas de carboidratos e outras substâncias importantes no processo de enraizamento adventício. Assim, o sucesso e o tempo de armazenamento dependem da umidade relativa, da temperatura, do genótipo, dos patógenos, das condições de crescimento da planta-matriz e da época de coleta das brotações destinadas ao processo de estaquia.

Entre algumas práticas que visam aumentar o tempo de armazenamento das estacas, destacam-se a redução da temperatura, o aumento da umidade, a diminuição da luz e a aplicação de antitranspirante. Essas condições buscam manter o vigor, a turgescência e a minimização das atividades metabólicas das brotações, visando garantir o máximo potencial de enraizamento da estaca (XAVIER, 2002).

A importância da propagação clonal de *Eucalyptus* requer o desenvolvimento de pesquisas que busquem avaliar o efeito do tempo de armazenamento no enraizamento de miniestacas, como subsídio para o planejamento logístico do processo de produção de mudas clonais em viveiro. Dessa forma, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito do tempo de armazenamento de miniestacas no enraizamento de quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material experimental

Foram utilizados quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* provenientes da empresa International Paper do Brasil, localizada no Município de Mogi Guaçu, São Paulo. O clima dessa região é do tipo Cwa (tropical, úmido e mesotérmico), segundo a classificação de Köeppen, com latitude de 22°21'S, longitude de 48°58'W e altitude média de 639 m. Apresenta precipitação média anual de 1.317 mm e temperatura média anual de 21 °C, com máxima média de 24 °C e mínima média de 16 °C.

Para a seleção desses clones foram considerados os percentuais de área plantada e de enraizamento desses materiais genéticos, dados esses fornecidos pelo Departamento de Pesquisa da referida empresa.

A partir de plantas obtidas pela técnica de miniestaquia, o minijardim clonal foi instalado no Viveiro Experimental da International Paper do Brasil, localizado em condições cobertas, constituído pelos quatro clones em estudo (H1, H2, H3 e H4).

2.2. Manejo do minijardim clonal

Conforme a técnica de miniestaquia (XAVIER e WENDLING, 1998; HIGASHI et al., 2000 e ASSIS et al., 2004) e de acordo com os procedimentos de manejo adotados pela empresa, o minijardim clonal foi constituído de minicepas, obtidas pelo enraizamento de miniestacas oriundas de brotações de plantas propagadas pelo método da microestaquia. 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 miniestacas (brotações) para a realização do experimento.

O sistema de manejo do minijardim clonal adotado foi o utilizado comercialmente pela empresa e composto por canaletas de alumínio revestidas com fibra de vidro, sobre as quais permaneceram as minicepas, plantadas em tubetes dispostos em bandejas de isopor cobertas por plástico dupla fase. A irrigação e a nutrição mineral foram efetuadas através do sistema automatizado de fertirrigação por inundação, de maneira que somente o sistema radicular permanecia em contato com a solução nutritiva. A cada uma hora o sistema era acionado, irrigando por um período de 20 minutos e atingindo cerca de 6 cm de altura do tubete. Após esse período, a canaleta era esvaziada e a solução nutritiva retornava à caixa de armazenagem da solução sendo esta trocada a cada sete dias, e, diariamente, eram mensurados a Ec (condutividade elétrica, usada para medir a quantidade de sais presentes em solução) e o pH da solução. Nesse período, a Ec variou de 2,00 a 2,40 mS cm⁻¹ e o pH, de 3,05 a 5,76. Em 500 litros de solução nutritiva, adicionaram-se 20 g de nitrato de amônio, 200 g de nitrato de cálcio, 108 g de sulfato de amônio, 60 g de micronutrientes obtidos pelo produto Quelatec AZ[®] e 740 g de Phytus Super K[®]. O Quelatec AZ[®] constitui-se de um quelato solúvel de micronutrientes, composto por ferro, manganês, zinco e cobre na forma quelatada e por boro e molibdênio na forma mineral. Já o Phytus Super K[®] foi constituído de um fertilizante composto por NPK (00:40:20).

2.3. Obtenção, preparo, plantio e enraizamento das miniestacas

As miniestacas foram coletadas no minijardim clonal e acondicionadas em caixas de PVC transparente, mantidas fechadas. Para manter as condições de turgescência do material vegetativo, pulverizou-se água, mediante bomba costal, a intervalos de 10 minutos, até a etapa de enraizamento, quando, então as miniestacas foram preparadas com dimensões variando de 5 a 7 cm de comprimento e com um par de folhas, tendo a área foliar sido reduzida à metade de sua dimensão original.

Após o preparo das miniestacas, estas receberam os seguintes tratamentos: T1 – plantio após 1 a 2 horas da coleta das miniestacas; T2, T3, T4, T5 e T6, referentes ao plantio das miniestacas após o armazenamento em câmara fria por 1, 2, 4, 8 e 16 dias, respectivamente, para posteriormente serem plantadas e colocadas para enraizamento na casa de vegetação. As miniestacas coletadas nos tratamentos 2 ao 6 foram armazenadas em recipientes plásticos tampados e acondicionadas em uma câmara fria nas condições de temperatura (10 °C ± 2) e umidade relativa do ar (40 a 50%) controladas, sendo realizada, caso necessário, a pulverização de água sobre as miniestacas dentro da câmara fria.

O período compreendido entre o preparo das miniestacas, seus tratamentos com os cofatores e plantio no substrato, na casa de vegetação, foi sempre inferior a 30 minutos.

No enraizamento das miniestacas utilizaram-se como recipientes tubetes plásticos de 55 cm³ de capacidade, contendo substrato constituído de partes iguais de vermiculita de granulometria fina e casca de arroz carbonizada. A nutrição mineral utilizada no substrato foi composta por 4,00 kg m⁻³ de Fosmag 500B (MANAH, São Paulo), composto por 4% de N, 14% de P, 7% de K, 14% de Ca, 9% de S, 2% de Mg e 0,5% de B; 5,40 kg m⁻³ de NPK (32:00:03); e 3,06 kg m⁻³ de cloreto de potássio.

O processo de enraizamento das miniestacas foi conduzido em casa de vegetação climatizada (umidade relativa do ar \geq 80% e temperatura em torno de 27 °C) com permanência de 25 dias. Posteriormente, as miniestacas foram transferidas para casa de sombra (permanência de 10 dias para aclimatização) e, finalmente, a pleno sol até completarem 50 dias de idade.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, em arranjo fatorial 6 x 4, constituído de seis tratamentos (plantio operacional e o armazenamento em câmara fria por 1, 2, 4, 8 e 16 dias) e quatro clones (H1, H2, H3 e H4), em quatro repetições e parcelas compostas de 16 plantas/repetição.

2.4. Avaliações experimentais

As avaliações das plantas foram realizadas quanto ao percentual de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (aos 25 dias de idade), percentual de enraizamento e altura das miniestacas na saída da casa de sombra (aos 35 dias de idade). Aos 50 dias de idade a pleno sol, avaliaram-se o percentual de sobrevivência, a altura, o diâmetro de colo e a massa da matéria seca da parte aérea e da raiz das miniestacas enraizadas.

Para o clone H3, não se pode avaliar o tratamento T6 (armazenamento em câmara fria por 16 dias de idade), pois as miniestacas sofreram oxidação e morte aos 10 dias de idade, enquanto estavam armazenadas em câmara fria. Nos três outros clones, as avaliações de altura, diâmetro de colo, massa da matéria seca da parte aérea e do sistema radicular foram realizadas em quatro miniestacas/repetição selecionadas ao acaso em cada tratamento.

Os dados resultantes foram submetidos às análises de variância e regressão, utilizando-se os programas Statistica e Excel.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos resultados da análise de variância das características avaliadas (Quadro 1), observou-se efeito significativo, pelo teste F ($P < 0,05$), da interação “clone x tratamento” sobre todas as características avaliadas, indicando respostas diferenciadas dos clones em relação aos tempos de armazenamento testados.

Quadro 1 - Resultados da análise de variância das características de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (SOBCV); do percentual de enraizamento (ENRCS) e altura (ALTCS) das miniestacas na saída da casa de sombra; e da sobrevivência (SOB50), altura (ALT50), diâmetro de colo (DC50) e da massa de matéria seca da parte aérea (PSPA) e do sistema radicular (PSR) das plantas aos 50 dias de idade, em função do tempo de armazenamento das estacas, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios							
		SOBCV (%)	ENRCS (%)	ALTCS (cm)	SOB50 (%)	ALT50 (cm)	DC50 (mm)	PSPA (g)	PSR (g)
Clone (C)	3	4418,81*	3594,84*	224,46*	4453,53*	364,80*	0,94*	53,23*	10,28*
Trat. (T)	5	16314,21*	15910,81*	212,19*	14110,76*	418,87*	5,55*	30,34 ^{ns}	7,59 ^{ns}
C*T	15	443,55*	439,24*	20,59*	452,56*	30,96*	0,40*	5,30*	0,96*
Resíduo	72	39,47	48,01	5,79	58,46	5,86	0,09	0,92	0,28
Média Geral	-	61,5	54,9	10,0	50,7	11,1	1,3	2,7	1,3
CV _{exp} (%)	-	23,8	29,2	29,9	22,3	29,0	30,4	30,5	30,7

^{“ns”} e ^{“*”} = não-significativo e significativo, respectivamente, a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Os coeficientes de variação experimental encontrados variaram de 22,3 até 30,7%, evidenciando-se razoável precisão experimental em relação às características estudadas, de acordo com os valores encontrados na literatura (RIBAS, 1997; WENDLING et al., 2000; TITON, 2001).

Na Figura 1, observa-se que em todos os clones ocorreu decréscimo nos índices de sobrevivência na saída da casa de vegetação (aos 25 dias), conforme aumentou o tempo de armazenamento das miniestacas na câmara fria, sendo os melhores resultados de sobrevivência na saída da casa de vegetação obtidos com o plantio após uma a duas horas da coleta das miniestacas, em todos os clones estudados.

Dentre os clones, o H3 apresentou decréscimo mais acentuado nos índices de sobrevivência na saída da casa de vegetação, não suportando armazenamento por mais de oito dias.

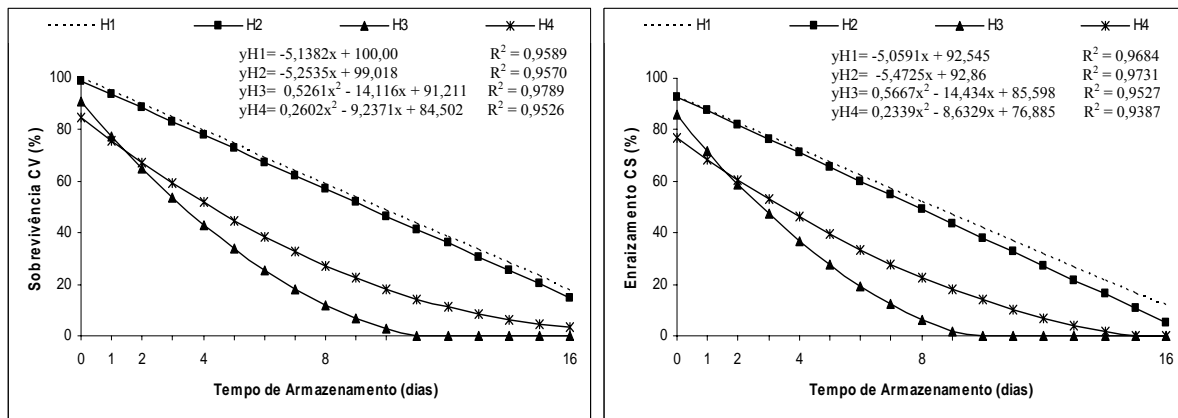


Figura 1 – Sobrevivência e enraizamento das miniestacas na saída da casa de vegetação e na saída da casa de sombra, aos 25 e 35 dias de idade, em função do tempo de armazenamento das miniestacas na câmara fria, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

De acordo com vários autores (VALLE e CALDEIRA, 1978; BERTOLOTTI e GONÇALVES, 1980; XAVIER, 2002), a temperatura ambiente e a umidade relativa do ar exercem papel fundamental no enraizamento das estacas, sendo a faixa ideal de temperatura entre 25 e 30 °C e umidade do ar acima de 80%. Baixas temperaturas diminuem o metabolismo das estacas, levando a um maior tempo para o enraizamento ou, até mesmo, não proporcionando condições adequadas para que ocorressem a indução, diferenciação do primórdio e o crescimento radicular. A umidade atmosférica tem grande efeito no estado hídrico das estacas, visto que estas não possuem meios para absorver água e nutrientes do substrato, enquanto a umidade do substrato afeta o processo de enraizamento, porque seu excesso é prejudicial, por propiciar o desenvolvimento de doenças, dificultar as trocas gasosas, impedir o enraizamento e levar à morte dos tecidos.

Ao analisar o enraizamento das miniestacas na saída da casa de sombra (Figura 1), verificou-se que em todos os clones os resultados de enraizamento foram semelhantes aos encontrados na saída da casa de vegetação, sendo os melhores índices de enraizamento das miniestacas na saída da casa de sombra obtidos com plantio após um a duas horas da coleta das miniestacas, em todos os clones estudados.

Durante o tempo de permanência na casa de sombra, observou-se mortalidade somente das miniestacas que não enraizaram ou que apresentavam sistema radicular muito pouco desenvolvido, na saída da casa de vegetação, à exceção do clone H3, cujas miniestacas morreram na câmara fria aos 10 dias de idade. Não se verificou mortalidade causada por outros fatores.

Quanto à altura das miniestacas na saída da casa de sombra (Figura 2), observou-se que o clone H1 apresentou os maiores índices de crescimento em altura em relação aos demais clones, sendo os melhores resultados obtidos com até dois dias de armazenamento das miniestacas na câmara fria. No clone H2, os maiores índices de crescimento em altura foram obtidos entre um a quatro dias de armazenamento das miniestacas na câmara fria. Já nos clones H3 e H4, o armazenamento das miniestacas na câmara fria foi prejudicial ao crescimento em altura das miniestacas na saída da casa de sombra.

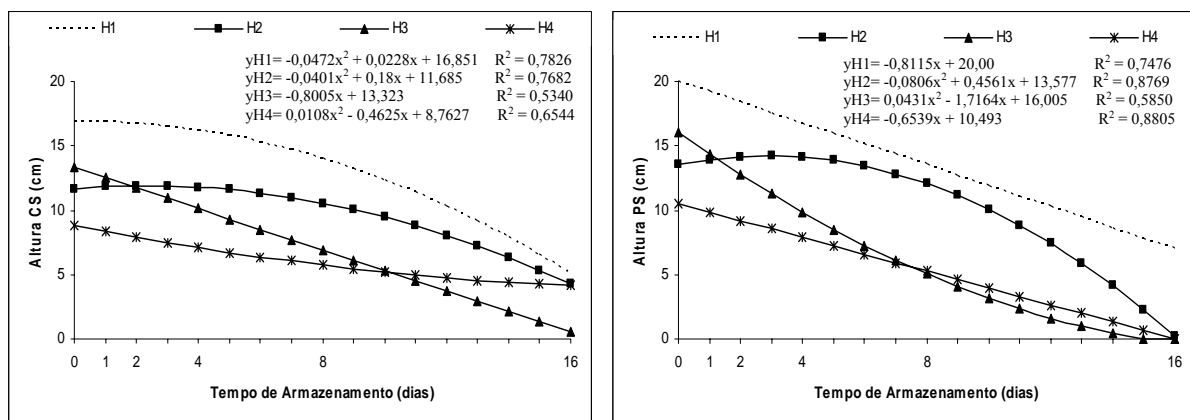


Figura 2 – Altura das miniestacas na saída da casa de sombra e a pleno sol, aos 35 e 50 dias de idade, em função do tempo de armazenamento das miniestacas na câmara fria, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Quanto à sobrevivência das plantas a pleno sol (Figura 3), o comportamento dos clones foi semelhante ao do enraizamento na saída da casa de sombra (Figura 1). Em todos os clones, os melhores resultados de sobrevivência a pleno sol foram obtidos no plantio após uma a duas horas da coleta das miniestacas.

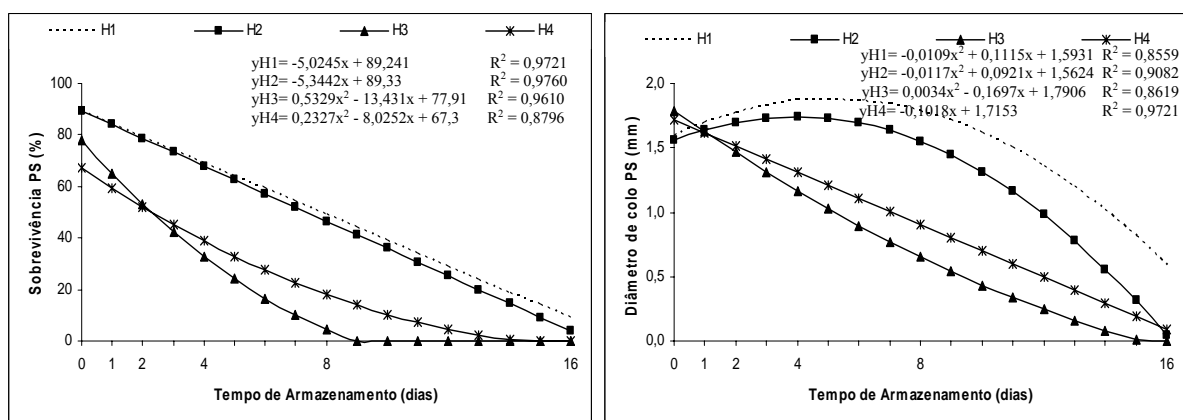


Figura 3 – Sobrevivência e diâmetro de colo das miniestacas a pleno sol, aos 50 dias de idade, em função do tempo de armazenamento das miniestacas na câmara fria, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Analisando a altura das miniestacas a pleno sol (Figura 3), observam-se resultados semelhantes aos encontrados nos clones H2, H3 e H4 na saída da casa de sombra. No entanto, no clone H1 os melhores índices de crescimento em altura das miniestacas a pleno sol foram obtidos com o plantio após uma a duas horas da coleta das miniestacas.

Na Figura 3, verificam-se resultados de diâmetro de colo semelhantes nos clones H1 e H2, sendo os melhores índices de diâmetro de colo obtidos entre dois e oito dias de armazenamento das miniestacas na câmara fria. Já nos clones H3 e H4 o armazenamento das miniestacas na câmara fria foi prejudicial ao crescimento em diâmetro de colo das miniestacas a pleno sol.

Não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos dos clones estudados em relação às características de peso de matéria seca da parte aérea e da raiz das plantas a pleno sol (Quadro 1).

A hipótese era de que o armazenamento das miniestacas por pelo menos um dia na câmara fria não promovesse queda no enraizamento e, ou, na sobrevivência delas nos quatro clones estudados, porém se verificou que só o fato de não executar o plantio das miniestacas entre uma a duas horas, após a sua coleta, já é um fator preponderante para uma marcada diminuição na sobrevivência das miniestacas, sendo mais crítico ns clones H3 e H4, indicando efeito genotípico.

4. CONCLUSÕES

Esses resultados evidenciam que o tempo de armazenamento utilizado nas miniestacas teve influência marcante no enraizamento e crescimento das plantas. Conclui-se, assim, que os clones estudados responderam mais eficientemente ao enraizamento quando foi realizado o plantio logo após a coleta das miniestacas, diante do efeito negativo observado do armazenamento desses propágulos, mesmo quando executado por um curto período de tempo.

5. REFERÊNCIAS

ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa, MG: UFV, 2004. 442 p.

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

ASSIS, T.; FETT-NETO, A.G.; ALFENAS, A.C. Current techniques and prospects for the clonal propagation of hardwoods with emphasis on *Eucalyptus*. In: Walters C, Carson M (Eds.). **Plantation Forest Biotechnology for the 21st Century**, Research Signpost, India, 2004. p. 303-333.

BERTOLOTI, G.; GONÇALVES, A. N. **Enraizamento de estacas**: especificações para construção do módulo de propagação. Piracicaba, SP: IPEF, 1980. 7 p. (Circular Técnica, 94).

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

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation**: principles and practices. 7. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2002. 880 p.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. A.; GONÇALVES, A. N. **Propagação vegetativa de *Eucalyptus***: princípios básicos e a sua evolução no Brasil. Piracicaba, SP: IPEF, 2000. 11 p. (Circular Técnica, 192).

RIBAS, K. C. **Interações entre auxina e cofatores do enraizamento na promoção do sistema radicular em estacas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden**. Botucatu, SP: UNESP, 1997. 150 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas).

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

VALLE, C. F.; CALDEIRA, C. J. Fatores que afetam o enraizamento de estacas de *Eucalyptus* spp. **Boletim Informativo IPEF**, v. 6, n. 18, p. 107-117, jul. 1978.

WENDLING, I. **Propagação clonal de híbridos de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia**. Viçosa, MG: UFV, 1999. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal).

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, 2000.

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

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

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

INFLUÊNCIA DO MODO DE ACONDICIONAMENTO DE MINIESTACAS NO ENRAIZAMENTO DE CLONES DE *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*

RESUMO – Este estudo teve como objetivo avaliar a influência do modo de acondicionamento de miniestacas no processo de enraizamento de quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. As miniestacas foram coletadas no minijardim clonal conduzido em sistema de hidroponia em canaletas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 5 x 4, constituído de cinco tratamentos (acondicionamento das miniestacas em posição horizontal no recipiente; em posição vertical na vermiculita; em posição vertical na vermiculita+carvão ativado; em posição vertical na vermiculita+Phytus e em posição vertical na vermiculita+PVP) e quatro clones, em quatro repetições e parcelas compostas de 16 plantas/repetição. Foram realizadas avaliações na casa de vegetação, casa de sombra e a pleno sol quanto ao percentual de enraizamento, altura, diâmetro de colo e massa seca da parte aérea e radicular das miniestacas enraizadas. Conclui-se que os melhores resultados foram obtidos com o acondicionamento das miniestacas em posição vertical na vermiculita, podendo ser associado com PVP, em função do clone.

Palavras-chave: Miniestaquia, estaquia, propagação vegetativa e silvicultura clonal.

INFLUENCY OF THE CONDITIONING METHOD OF MINICUTTINGS ON THE ROOTING OF *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* CLONES

ABSTRACT – The objective of the present study was to evaluate the influence of the conditioning method on the rooting process of minicuttings of four clones of *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. The minicuttings were collected in a clonal minigarden carried on in a hydroponic system in small gutters. The experimental design used was of random plots, constituted by five treatments (conditioning of the minicuttings in a horizontal position in the container; in a vertical position in vermiculite; in a vertical position in vermiculite+activated carbon; in a vertical position in vermiculite+Phytus, and in a vertical position in vermiculite+PVP) and four clones, in four repetitions and plots of 16 plants per repetition. Evaluations of the rooting percentage, height, diameter of the stem and dry mass of the aerial and root parts of the rooted minicuttings in a greenhouse, a shade house and in the open sun were made. It was concluded that the best results were obtained with the conditioning of the minicuttings in a vertical position in vermiculite and, depending on the clone, the vermiculite can be associated with PVP.

Keywords: Minicutting, stem-cutting rooting, vegetative propagation and clonal silviculture.

1. INTRODUÇÃO

O êxito do processo de miniestaquia na propagação vegetativa de *Eucalyptus* pode ser atribuído, em parte, ao conhecimento do processo de maturação que, geralmente, afeta as espécies lenhosas. De acordo com o seu desenvolvimento ontogênico, o grau de maturação pode afetar diretamente o desenvolvimento rizogênico dos propágulos (WENDLING et al., 2000; OLIVEIRA, 2003).

Entre os vários fatores que podem influenciar a propagação vegetativa, estão aqueles ligados às condições ambientais de enraizamento das estacas, como umidade, temperatura, luz, substrato para enraizamento das estacas, genótipo, idade do propágulo, tipo de estaca, balanço hormonal da estaca, estado nutricional da planta-matriz e estado fitossanitário dos propágulos.

Por se tratar de uma técnica de maior sensibilidade às condições ambientais, quando comparada com a estaquia convencional, principalmente pelo fato de se trabalhar com material vegetativo mais herbáceo e manejado de forma intensiva, a miniestaquia requer alguns cuidados, principalmente, quanto à coleta e acondicionamento das miniestacas (WENDLING et al., 2000; TITON, 2001). É fundamental manter túrgidas as miniestacas, visto que o estresse hídrico, além do dessecamento, pode alterar os níveis hormonais (como ácido abscísico, citocinina e etileno) e interferir, negativamente, no enraizamento adventício. Recomenda-se que o período entre a coleta dos ramos na planta-matriz, seguido do preparo das miniestacas e o plantio no substrato, na casa de vegetação, seja inferior a três horas (HARTMANN et al., 2002; ALFENAS et al., 2004). No entanto, alguns experimentos realizados na empresa International Paper do Brasil evidenciam que, ao coletar as miniestacas no jardim clonal e colocá-las em posição vertical por alguns minutos em um recipiente, antes de efetuar o plantio no substrato foi observada uma melhor resposta nos índices de enraizamento das miniestacas¹.

O enraizamento também pode ser comprometido pela rápida penetração de ar (embolia) nos vasos do xilema, no momento de preparo das estacas, interrompendo a continuação da coluna líquida e interpondo grande resistência ao fluxo de água, o que pode causar desidratação e morte das folhas (TAIZ e ZEIGER, 2004).

O grau de oxidação fenólica na base da estaca é marcadamente influenciado pelo genótipo, e, assim, alguns gêneros são mais suscetíveis que outros a essa oxidação, podendo

¹ Comunicação pessoal de funcionários da empresa International Paper do Brasil Ltda.

dificultar o estabelecimento inicial das estacas (TEIXEIRA, 2004). A ocorrência de compostos fenólicos pode estar ligada aos processos de regulação de crescimento, especialmente com as auxinas que, dependendo da concentração endógena no tecido, resulta na indução desses compostos (THOMAS e RAVINDRA, 1997). Um dos procedimentos que podem ser adotados para a redução da oxidação fenólica é a utilização de substâncias antioxidantes, a exemplo do polivinilpirrolidona (PVP), ácido ascórbico, ácido cítrico, carvão ativado, L-cisteína, ditiotreitól, tiuréia, água de coco e albumina de soro bovino. Os antioxidantes podem atuar de modo a inibir a síntese ou a ação de enzimas ligadas à oxidação dos polifenóis ou agir como adsorventes dessas substâncias.

Este estudo teve como objetivo avaliar a influência do modo de acondicionamento de miniestacas no enraizamento de quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material experimental

Foram utilizados quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* provenientes da empresa International Paper do Brasil, localizada no Município de Mogi Guaçu, São Paulo. O clima dessa região é do tipo Cwa (tropical, úmido e mesotérmico), segundo a classificação de Köppen, com latitude de 22°21'S, longitude de 48°58'W e altitude média de 639 m. Apresenta precipitação média anual de 1.317 mm e temperatura média anual de 21 °C, com máxima média de 24 °C e mínima média de 16 °C.

Para a seleção desses clones foram considerados os percentuais de área plantada e de enraizamento desses materiais genéticos, dados esses fornecidos pelo Departamento de Pesquisa da referida empresa.

A partir de plantas obtidas pela técnica de miniestaquia, o minijardim clonal foi instalado no Viveiro Experimental da International Paper do Brasil, localizado em condições cobertas, constituído pelos quatro clones em estudo (H1, H2, H3 e H4).

2.2. Manejo do minijardim clonal

Conforme a técnica de miniestaquia (XAVIER e WENDLING, 1998; HIGASHI et al., 2000 e ASSIS et al., 2004) e de acordo com os procedimentos de manejo adotados pela empresa, o minijardim clonal foi constituído de minicepas, obtidas pelo enraizamento de

miniéstacas oriundas de brotações de plantas propagadas pelo método da microestaquia. As miniéstacas 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 miniéstacas (brotações) para a realização do experimento.

O sistema de manejo do minijardim clonal adotado foi o utilizado comercialmente pela empresa e composto por canaletas de alumínio revestidas com fibra de vidro, sobre as quais permaneceram as minicepas, plantadas em tubetes dispostos em bandejas de isopor cobertas por plástico dupla fase. A irrigação e a nutrição mineral foram efetuadas através do sistema automatizado de fertirrigação por inundação, de maneira que somente o sistema radicular permanecia em contato com a solução nutritiva. A cada uma hora o sistema era acionado, irrigando por um período de 20 minutos e atingindo cerca de 6 cm de altura do tubete. Após esse período, a canaleta era esvaziada e a solução nutritiva retornava à caixa de armazenagem da solução, sendo esta trocada a cada sete dias, e, diariamente, eram mensurados a Ec (condutividade elétrica, usada para medir a quantidade de sais presentes em solução) e o pH da solução. Nesse período, a Ec variou de 2,00 a 2,40 mS cm⁻¹ e o pH, de 3,05 a 5,76. Em 500 litros de solução nutritiva, adicionaram-se 20 g de nitrato de amônio, 200 g de nitrato de cálcio, 108 g de sulfato de amônio, 60 g de micronutrientes obtidos pelo produto Quelatec AZ[®] e 740 g de Phytus Super K[®]. O Quelatec AZ[®] constitui-se de um quelato solúvel de micronutrientes, composto por ferro, manganês, zinco e cobre na forma quelatada e por boro e molibdênio na forma mineral. Já o Phytus Super K[®] foi constituído de um fertilizante composto por NPK (00:40:20).

2.3. Obtenção, preparo, plantio e enraizamento das miniéstacas

As miniéstacas foram coletadas no minijardim clonal e acondicionadas em caixas de PVC transparente, mantidas fechadas. Para manter as condições de turgescência do material vegetativo, pulverizou-se água, utilizando uma bomba costal, em intervalos de 10 minutos, até a etapa de enraizamento, quando, então as miniéstacas foram preparadas com dimensões variando de 5 a 7 cm de comprimento e com um par de folhas, tendo a área foliar sido reduzida à metade de sua dimensão original.

Após o preparo das miniéstacas, estas receberam os seguintes tratamentos: T1 – Acondicionamento da miniéstaca deitada no recipiente, T2 – Acondicionamento em posição vertical na vermiculita, T3 – Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+carvão ativado (1.000 mg L⁻¹), T4 – Acondicionamento em posição vertical na

vermiculita+Phytus (1 ml L⁻¹) e T5 – Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+PVP (1.000 mg L⁻¹), para posteriormente serem plantadas e colocadas para enraizamento na casa de vegetação. As miniestacas permaneceram por 30 minutos em cada tratamento antes de serem plantadas no substrato.

O período compreendido entre o preparo das miniestacas, seus tratamentos com os cofatores e plantio no substrato, na casa de vegetação, foi sempre inferior a 30 minutos.

No enraizamento das miniestacas, utilizaram-se como recipientes tubetes plásticos de 55 cm³ de capacidade, contendo substrato constituído de partes iguais de vermiculita de granulometria fina e casca de arroz carbonizada. A nutrição mineral utilizada no substrato foi composta por 4,00 kg m⁻³ de Fosmag 500B (MANAH, São Paulo) composto por 4% de N, 14% de P, 7% de K, 14% de Ca, 9% de S, 2% de Mg e 0,5% de B; 5,40 kg m⁻³ de NPK (32:00:03) e 3,06 kg m⁻³ de cloreto de potássio.

O processo de enraizamento das miniestacas foi conduzido em casa de vegetação climatizada (umidade relativa do ar \geq 80% e temperatura em torno de 27 °C) com permanência de 25 dias. Posteriormente, as miniestacas foram transferidas para casa de sombra (permanência de 10 dias para aclimatização) e, finalmente, a pleno sol até completarem 50 dias de idade.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 5 x 4, constituído de cinco tratamentos (acondicionamento das miniestaca deitada no recipiente, em posição vertical na vermiculita, em posição vertical na vermiculita+carvão ativado, em posição vertical na vermiculita+Phytus e em posição vertical na vermiculita+PVP) e quatro clones (H1, H2, H3 e H4), em quatro repetições e parcelas compostas de 16 plantas/repetição.

2.4. Avaliações experimentais

As avaliações das plantas foram realizadas quanto ao percentual de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (aos 25 dias de idade), percentual de enraizamento e altura das miniestacas na saída da casa de sombra (aos 35 dias de idade) e aos 50 dias de idade a pleno sol, avaliaram-se o percentual de sobrevivência, a altura, o diâmetro de colo e a massa da matéria seca da parte aérea e da raiz das miniestacas enraizadas.

As avaliações de altura, diâmetro de colo, massa da matéria seca da parte aérea e do sistema radicular foram realizadas em quatro miniestacas/repetição selecionadas ao acaso em cada tratamento.

Os dados resultantes foram submetidos à análise de variância e ao teste de média, utilizando-se os programas Statistica e Excel.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos resultados da análise de variância das características avaliadas (Quadro 1), observou-se efeito significativo, pelo teste F ($P < 0,05$), da interação “clone x tratamento” em todas as características avaliadas, indicando respostas diferenciadas dos clones ao acondicionamento das miniestacas.

Quadro 1 - Resultados da análise de variância das características de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação (SOBCV); do percentual de enraizamento (ENRCS) e altura (ALTCS) das miniestacas na saída da casa de sombra; e da sobrevivência (SOB50), altura (ALT50), diâmetro de colo (DC50) e da massa de matéria seca da parte aérea (PSPA) e do sistema radicular (PSR) das plantas aos 50 dias de idade, em função do acondicionamento das miniestacas, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios							
		SOBCV (%)	ENRCS (%)	ALTCS (cm)	SOB50 (%)	ALT50 (cm)	DC50 (mm)	PSPA (g)	PSR (g)
Clone (C)	3	64,97*	109,21*	289,91*	256,10*	329,20*	1,18*	125,03*	33,67*
Trat. (T)	4	17,79 ^{ns}	50,30 ^{ns}	42,51*	72,49 ^{ns}	43,65*	0,20*	7,73*	3,93*
C*T	12	66,91*	140,05*	31,92*	167,94*	31,99*	0,18*	8,52*	1,55*
Resíduo	60	16,03	29,21	8,83	39,03	9,00	0,07	1,76	0,76
Média Geral	-	95,5	92,0	8,5	85,6	13,4	1,7	8,2	6,8
CV _{exp} (%)	-	5,3	7,7	28,8	9,5	28,4	22,4	34,1	22,2

^{ns} e * = não-significativo e significativo, respectivamente, a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Os coeficientes de variação experimental encontrados variaram de 5,3 até 34,1%, evidenciando-se boa precisão experimental em relação às características estudadas, de acordo com os valores encontrados na literatura (RIBAS, 1997; WENDLING et al., 2000; TITON, 2001).

3.1. Sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação

Na Figura 1, são apresentados os resultados de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação, conforme os tratamentos utilizados.

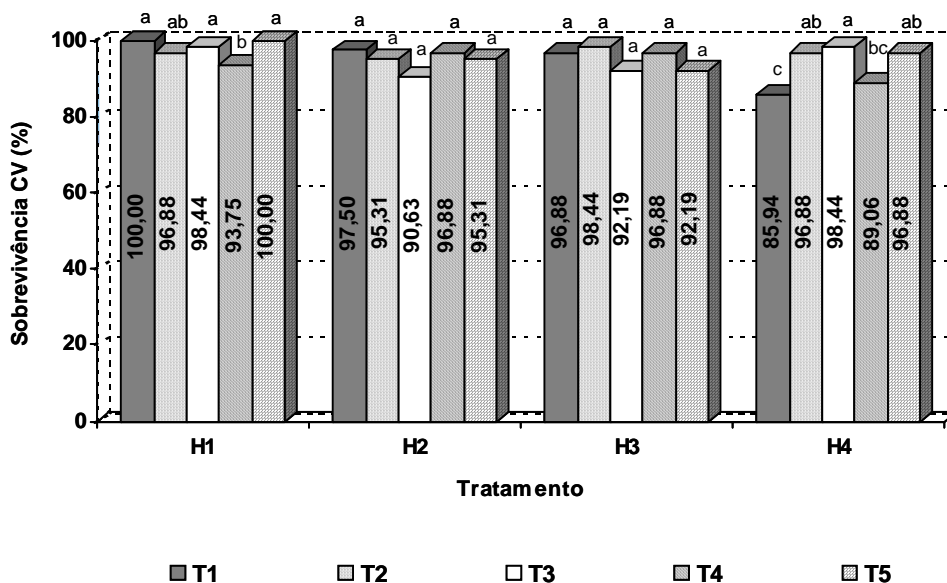


Figura 1 - Sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação, aos 25 dias de idade, em função do acondicionamento, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. As médias seguidas de uma mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. T1: Acondicionamento das miniestacas em posição horizontal no recipiente; T2: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita; T3: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+carvão ativado; T4: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+Phytus; e T5: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+PVP.

No clone H1, os melhores resultados de sobrevivência na saída da casa de vegetação foram ao acondicionar as miniestacas em posição horizontal no recipiente (T1), ou ao acondiciona-las em posição vertical na vermiculita+carvão ativado (T3) ou ao acondiciona-las em posição vertical na vermiculita+PVP (T5), não apresentando diferenças estatísticas entre esses três tratamentos. No clone H2 e H3, o modo de acondicionamento das miniestacas não teve influência nos resultados de sobrevivência na saída da casa de vegetação, não apresentando diferenças estatísticas entre os tratamentos desses clones. Já no clone H4, os melhores resultados de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação foram obtidos acondicionando as miniestacas em posição vertical na vermiculita (T2), na vermiculita+carvão ativado (T3) e na vermiculita+PVP (T5).

Com exceção do clone H4 nos tratamentos T1 e T4, que apresentaram 85,9 e 89,1% de sobrevivência, respectivamente, todos os demais, dentro dos tratamentos estudados, exibiram resultados superiores a 90,0% de sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação. Segundo Iritani et al. (1983), citados por TITON (2001), a sobrevivência na saída da casa de vegetação, embora não seja garantia de sucesso no enraizamento de estacas, é muito

importante, pois pode indicar a necessidade de controle das condições de umidade relativa do ar e temperatura na casa de vegetação.

3.2. Enraizamento e altura das miniestacas na saída da casa de sombra

Ao analisar o enraizamento das miniestacas na saída da casa de sombra (Figura 2), observou-se que os clones H2 e H3 apresentaram resultados de enraizamento semelhantes aos resultados encontrados na saída da casa de vegetação. No clone H1, os melhores resultados foram obtidos com o acondicionamento das miniestacas em posição vertical na vermiculita+PVP (T5). Já no clone H4, os maiores índices de enraizamento das miniestacas na saída da casa de sombra foram observados com o acondicionamento das miniestacas em posição vertical na vermiculita (T2) ou em posição vertical na vermiculita+PVP (T5), não apresentando diferenças estatísticas entre esses dois tratamentos.

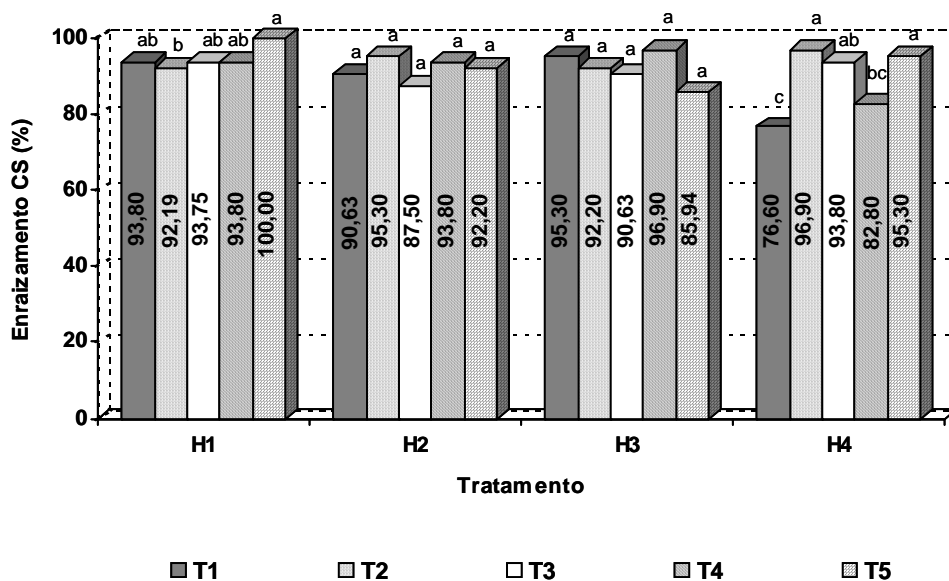


Figura 2 - Enraizamento das miniestacas na saída da casa de sombra, aos 35 dias de idade, em função do acondicionamento, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. As médias seguidas de uma mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. T1: Acondicionamento das miniestacas em posição horizontal no recipiente; T2: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita; T3: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+carvão ativado; T4: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+Phytus; e T5: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+PVP.

Com exceção do clone H4 no tratamento T1 (76,6% de enraizamento), todos os demais clones, dentro dos tratamentos estudados, apresentaram resultados superiores a 82,0% de enraizamento na saída da casa de sombra.

Quanto à altura das miniestacas na saída da casa de sombra (Figura 3), observou-se que o clone H1 apresentou os maiores índices de crescimento em altura ao acondicionar as miniestacas em posição vertical na vermiculita+PVP (T5). No clone H2, os maiores índices foram encontrados ao acondicionar as miniestacas em posição horizontal no recipiente (T1) ou em posição vertical na vermiculita+PVP (T5), não apresentando diferenças estatísticas entre esses dois tratamentos. Já nos clones H3 e H4 o modo de acondicionamento das miniestacas não teve influência nos índices de crescimento em altura na saída da casa de sombra, não apresentando diferenças estatísticas entre os tratamentos.

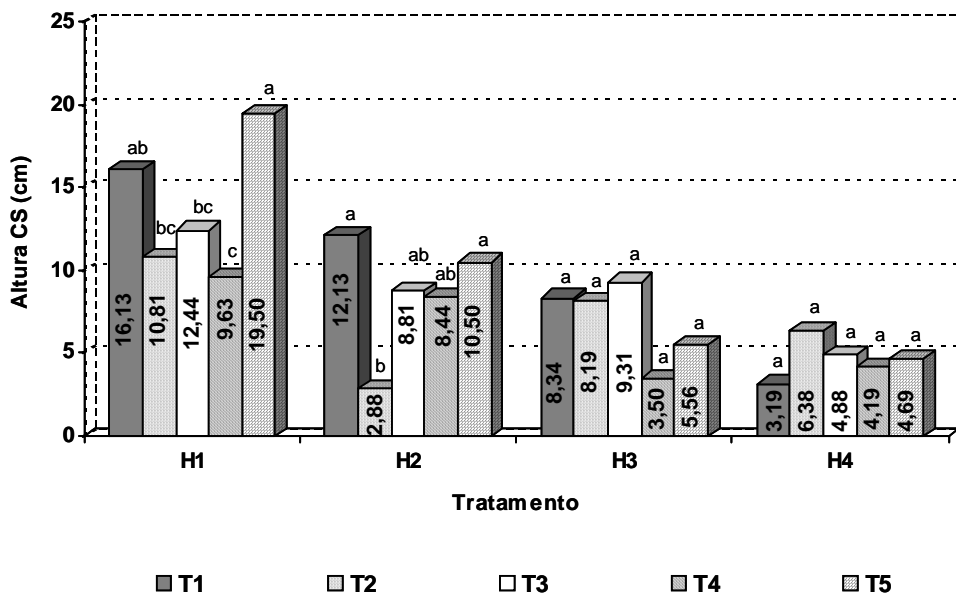


Figura 3 - Altura das miniestacas na saída da casa de sombra, aos 35 dias de idade, em função do acondicionamento, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. As médias seguidas de uma mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. T1: Acondicionamento das miniestacas em posição horizontal no recipiente; T2: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita; T3: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+carvão ativado; T4: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+Phytus; e T5: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+PVP.

3.3. Sobrevivência, altura, diâmetro de colo e matéria seca das miniestacas enraizadas

Ao analisar a sobrevivência das plantas a pleno sol (Figura 4), observou-se que os resultados apresentados pelos quatro clones (H1, H2, H3 e H4) foram semelhantes aos resultados na saída da casa de sombra.

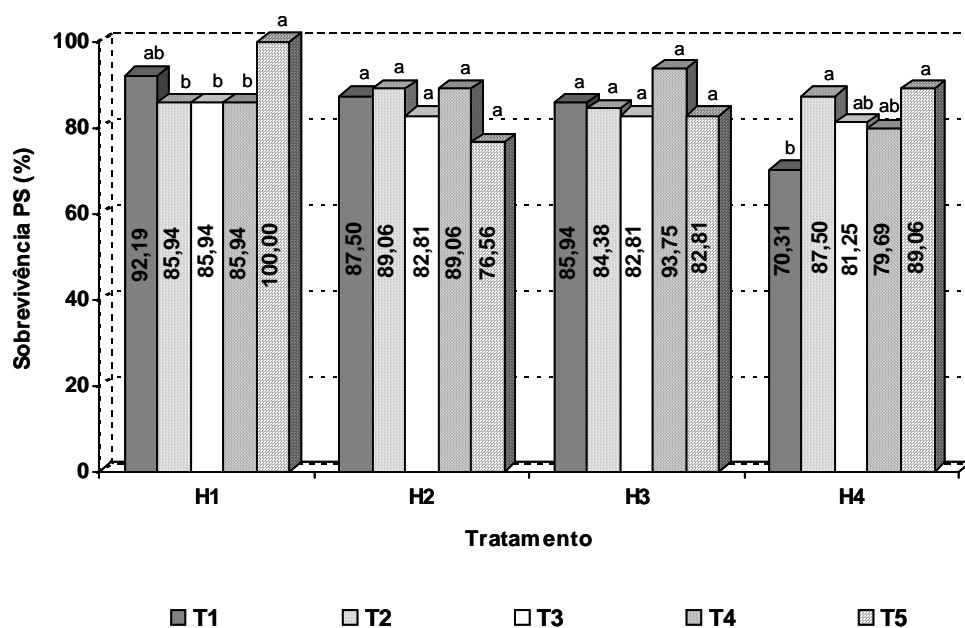


Figura 4 – Sobrevivência das miniestacas a pleno sol, aos 50 dias de idade, em função do acondicionamento, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. As médias seguidas de uma mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. T1: Acondicionamento das miniestacas em posição horizontal no recipiente; T2: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita; T3: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+carvão ativado; T4: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+Phytus; e T5: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+PVP.

No clone H1, os melhores resultados foram obtidos com o acondicionamento das miniestacas em posição vertical na vermiculita+PVP (T5). Nos clones H2 e H3, o modo de acondicionamento das miniestacas não teve influência nos resultados de sobrevivência a pleno sol, não apresentando diferenças estatísticas entre os tratamentos desses clones. Já no clone H4 os maiores índices de enraizamento das miniestacas na saída da casa de sombra foram observados com acondicionamento em posição vertical na vermiculita (T2) ou com o acondicionamento das miniestacas em posição vertical na vermiculita+PVP (T5), não apresentando diferenças estatísticas entre esses dois tratamentos. Com exceção do clone H4,

no tratamento T1 (70,3%), todos os percentuais de sobrevivência das plantas a pleno sol, aos 50 dias de idade, foram superiores a 76,0%.

Quanto à altura das miniestacas a pleno sol (Figura 5), verificou-se que os resultados apresentados pelos clones H3 e H4 foram semelhantes aos na saída da casa de sombra. No clone H1, os maiores índices de crescimento em altura foram encontrados ao acondicionar as miniestacas em posição horizontal no recipiente (T1) ou em posição vertical na vermiculita+PVP (T5), não apresentando diferenças estatísticas entre esses dois tratamentos. Já no clone H2, não foram obtidos diferenças estatísticas entre acondicionar as miniestacas em posição horizontal no recipiente (T1) ou em posição vertical na vermiculita+carvão ativado (T3) ou em posição vertical na vermiculita+PVP (T5), sendo os maiores índices de altura obtidos nesses tratamentos.

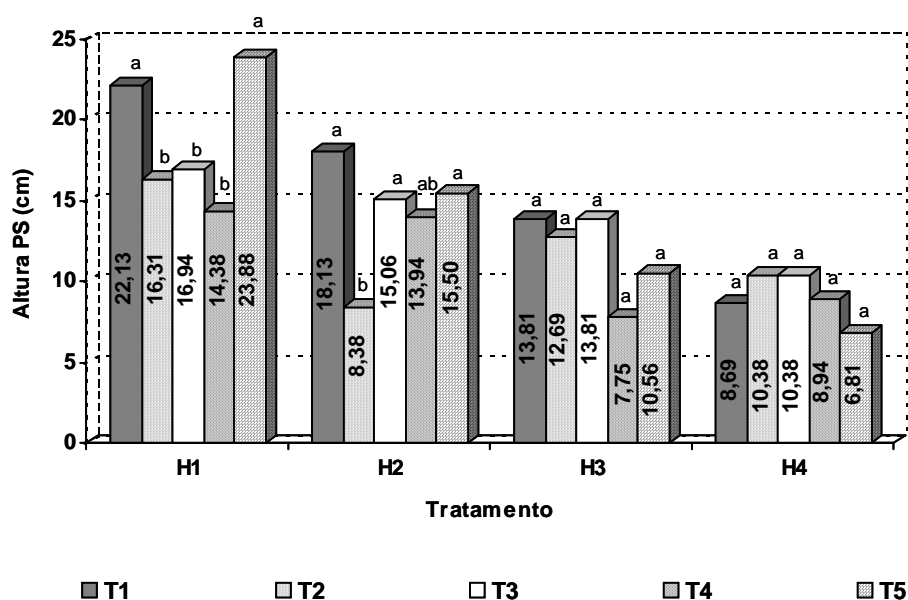


Figura 5 – Altura das miniestacas a pleno sol, aos 50 dias de idade, em função do acondicionamento, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. As médias seguidas de uma mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. T1: Acondicionamento das miniestacas em posição horizontal no recipiente; T2: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita; T3: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+carvão ativado; T4: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+Phytus; e T5: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+PVP.

Na Figura 6, observa-se que no clone H1 os maiores índices de crescimento em diâmetro de colo foram obtidos com o acondicionamento das miniestacas em posição vertical na vermiculita+PVP (T5). No clone H2, os maiores índices de crescimento em diâmetro de colo foram obtidos ao acondicionar as miniestacas em posição horizontal no recipiente (T1)

ou em posição vertical na vermiculita+carvão ativado (T3) ou em posição vertical na vermiculita+Phytus (T4) ou em posição vertical na vermiculita+PVP (T5), não apresentando diferenças estatísticas entre esses quatro tratamentos. Já nos clones H3 e H4 o modo de acondicionamento das miniestacas não influenciou os índices de crescimento em diâmetro de colo a pleno sol, não exibindo diferenças estatísticas entre os tratamentos.

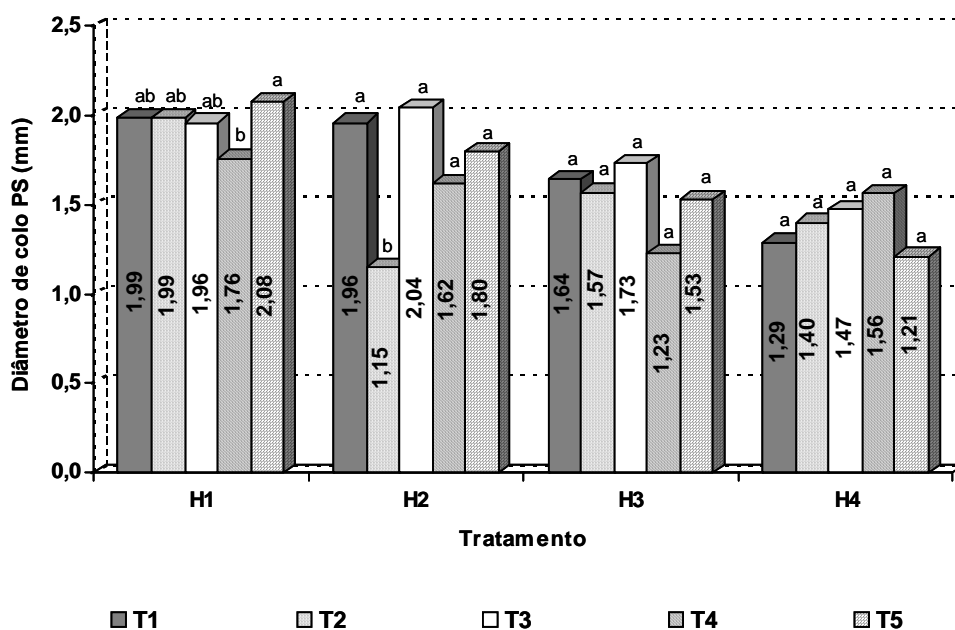


Figura 6 – Diâmetro de colo das miniestacas a pleno sol, aos 50 dias de idade, em função do acondicionamento, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. As médias seguidas de uma mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. T1: Acondicionamento das miniestacas em posição horizontal no recipiente; T2: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita; T3: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+carvão ativado; T4: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+Phytus; e T5: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+PVP.

Analisando a massa seca da parte área das miniestacas a pleno sol (Figura 7), verificou-se que os maiores resultados foram obtidos no clone H1 com o acondicionamento das miniestacas em posição vertical na vermiculita+PVP (T5), e no clone H2 foram obtidos ao acondicionar as miniestacas em posição horizontal no recipiente (T1). Já nos clones H3 e H4 o modo de acondicionamento das miniestacas não influenciou os índices de crescimento em diâmetro de colo a pleno sol, não apresentando diferenças estatísticas entre os tratamentos.

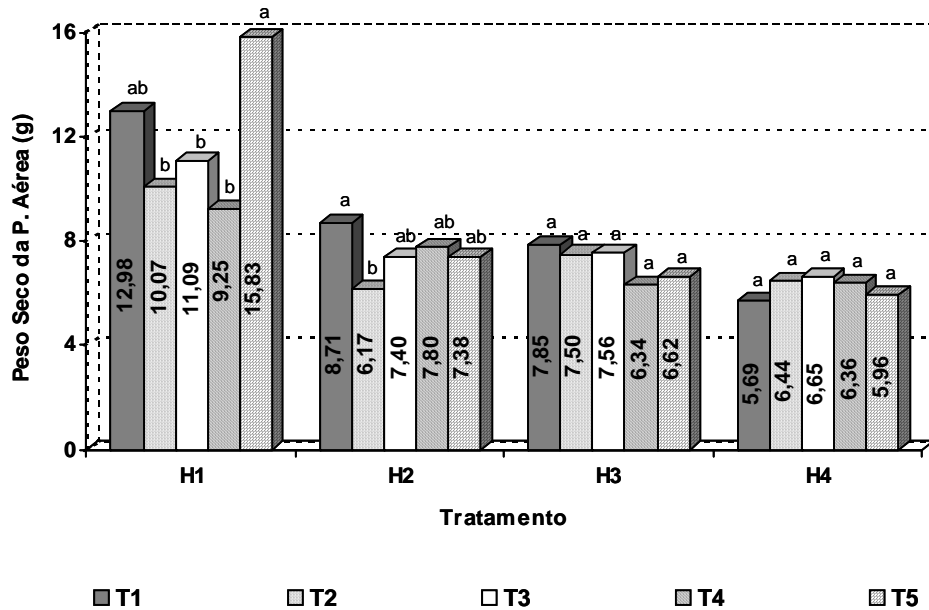


Figura 7 – Massa seca da parte aérea das miniestacas a pleno sol, aos 50 dias de idade, em função do acondicionamento, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. As médias seguidas de uma mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. T1: Acondicionamento das miniestacas em posição horizontal no recipiente; T2: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita; T3: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+carvão ativado; T4: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+Phytus; e T5: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+PVP.

Quanto à massa seca do sistema radicular das miniestacas a pleno sol (Figura 8), observou-se que nos clones H1 e H4 os maiores resultados foram obtidos com o acondicionamento das miniestacas em posição vertical na vermiculita+carvão ativado (T3). No clone H2, os maiores resultados de massa seca do sistema radicular foram com o acondicionamento das miniestacas em posição horizontal no recipiente (T1). Já no clone H3 o modo de acondicionamento das miniestacas não influenciou os resultados de massa seca do sistema radicular, não apresentando diferenças estatísticas entre os tratamentos.

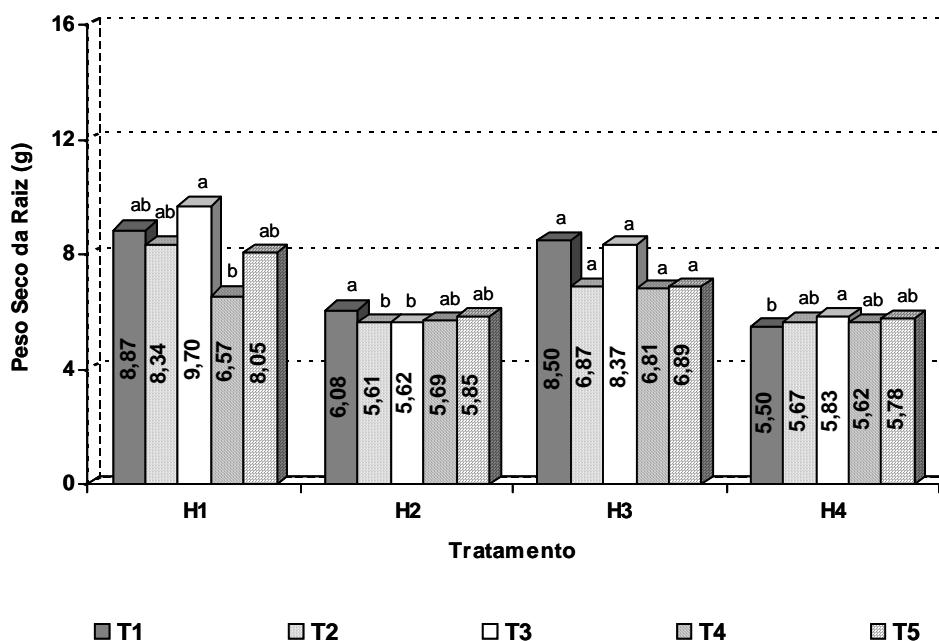


Figura 8 – Massa seca do sistema radicular das miniestacas a pleno sol, aos 50 dias de idade, em função do acondicionamento, dos quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. As médias seguidas de uma mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. T1: Acondicionamento das miniestacas em posição horizontal no recipiente; T2: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita; T3: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+carvão ativado; T4: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+Phytus; e T5: Acondicionamento em posição vertical na vermiculita+PVP.

A hipótese era de que o modo de acondicionamento promovesse efeito significativo no aumento dos índices de enraizamento e de sobrevivência das miniestacas nos quatro clones estudados. Isso foi confirmado pelos resultados obtidos com clone H1 (ao acondicionar as miniestacas em posição vertical na vermiculita+PVP (T5)) e com o clone H4 (ao acondicionar em posição vertical na vermiculita (T2) ou em posição vertical na vermiculita+PVP (T5)). Em relação aos clones H2 e H3, o modo de acondicionamento das miniestacas não influenciou os resultados de enraizamento e sobrevivência das miniestacas aos 50 dias de idade.

4. CONCLUSÕES

Assim, com relação ao objetivo proposto, conclui-se que a maioria dos clones estudados respondeu mais eficientemente ao enraizamento quando foi realizado o acondicionamento das miniestacas em posição vertical na vermiculita, o que pode ser associado com PVP, em função do clone.

5. REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa, MG: UFV, 2004. 442 p.
- ASSIS, T.; FETT-NETO, A. G.; ALFENAS, A. C. Current techniques and prospects for the clonal propagation of hardwoods with emphasis on *Eucalyptus*. In: Walters C, Carson M (Eds.). **Plantation Forest Biotechnology for the 21st Century**, Research Signpost, India, 2004. p. 303-333.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2002. 880 p.
- HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. A.; GONÇALVES, A. N. **Propagação vegetativa de *Eucalyptus*: princípios básicos e a sua evolução no Brasil**. Piracicaba, SP: IPEF, 2000. 11 p. (Circular Técnica, 192).
- OLIVEIRA, M. L. **Efeito da estaquia, miniestaquia, microestaquia e micropropagação no desempenho silvicultural de clones de *Eucalyptus* spp.** Viçosa, MG: UFV, 2003. 53 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal)
- RIBAS, K. C. **Interações entre auxina e cofatores do enraizamento na promoção do sistema radicular em estacas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden**. Botucatu, SP: UNESP, 1997. 150 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas).
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p. (Tradução).
- TEIXEIRA, J. B. **Limitações ao processo de cultivo *in vitro* de espécies lenhosas**. Disponível em: <<http://www.redbio.org.br>> Acessado em: 22 de abr. 2004.
- THOMAS, P.; RAVINDRA, M. B. Shoot tip culture in mango: influence of medium, genotype, explant factors, season and decontamination treatments on phenolic exudation, explant survival and axemic culture establishment. **Journal of Horticultural Science**, Bangalore, v. 72, n. 5, p. 713-722, Sept. 1997.
- TITON, M. **Propagação clonal de *Eucalyptus grandis* por miniestaquia e microestaquia**. Viçosa, MG: UFV, 2001. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal).
- WENDLING, I. **Propagação clonal de híbridos de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia**. Viçosa, MG: UFV, 1999. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal).
- 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, 2000.
- XAVIER, A.; WENDLING, I. **Miniestaquia na clonagem de *Eucalyptus***. Viçosa, MG: SIF, 1998. 10 p. (Informativo Técnico SIF, 11).

CARACTERIZAÇÃO MORFO-ANATÔMICA DA RIZOGÊNESE ADVENTÍCIA EM MINIESTACAS DE CLONES DE *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*

RESUMO – Este estudo teve como objetivo conhecer o padrão da rizogênese de miniestacas de quatro clones (H1, H2, H3 e H4) de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. As miniestacas foram coletadas no minijardim clonal e conduzidas em sistema de hidroponia em canaletas com fertirrigação. Para a caracterização histológica do processo de rizogênese das miniestacas foram coletadas amostras aos 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 dias após o plantio das miniestacas na casa de vegetação. As amostras foram fixadas em FAA, desidratadas em série etílica e incluídas em metacrilato. Foi observada a origem endógena de primórdios radiculares, a proliferação e a formação de uma massa de células desorganizadas (calos) em miniestacas com até 12 dias de idade, sendo um clone se destacou dos demais clones estudados por apresentar primórdios radiculares a partir de 8 dias após o plantio das miniestacas.

Palavras-chave: Miniestaquia, estaquia, propagação vegetativa e rizogênese.

MORPHO-ANATOMICAL CHARACTERIZATION OF THE ADVENTITIOUS RHIZOGENESIS IN MINICUTTINGS OF *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* CLONES

ABSTRACT – The present work aimed to accomplish the histological analysis of the events involved in the adventitious rooting pattern of four *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* clones (H1, H2, H3 and H4). The minicuttings were collected from a clonal minigarden and the rooting experiments were set up under mini-hedge indoor hydroponics by means of intermittent flooding fertirrigation. For histological analyses, the proximal ends of the minicuttings were after 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, and 12 days after planting them at greenhouse. After fixation with FAA, the samples were dehydrated in a graded ethanolic series and infiltrated overnight in metracrilate resin and finally embedded in resin. It was verified the endogenous origin of adventitious root primordia and the formation and proliferation of calli at the minicuttings proximal end up to 12 days. The clone H1 was the most prolific to rooting, presenting root primordia as early as 8 days from minicutting harvesting and placement under hydroponics.

Keywords: Minicuttings, stem-cutting rooting, vegetative propagation, rhizogenesis.

1. INTRODUÇÃO

A formação de raízes em estacas é um processo complexo tanto do ponto de vista anatômico quanto fisiológico, associado à desdiferenciação e ao redirecionamento do desenvolvimento de células vegetais competentes para a formação de meristemas que originarão raízes adventícias (ALFENAS et al., 2004; ASSIS et al., 2004).

Na propagação vegetativa por enraizamento de estacas, o sistema radicular é denominado adventício, pois a raiz formada a partir da estaca foi induzida em local diferente daquele onde normalmente se formaria e desenvolveria uma raiz. A origem e o desenvolvimento destas raízes é, geralmente, endógena e formam-se junto aos tecidos vasculares crescendo através dos tecidos localizados ao redor do seu ponto de origem. A maioria das raízes adventícias origina-se de células que apresentam a capacidade de tornarem-se meristemáticas (HARTMANN et al., 2002).

Durante o processo de enraizamento de estacas ocorrem algumas fases como desdiferenciação celular, aquisição de competência, determinação, diferenciação de células meristemáticas em primórdios radiculares e o crescimento e emergência de novas raízes, incluindo o desenvolvimento do tecido da estaca e a formação do tecido vascular entre os primórdios de raízes e o tecido vascular (HARTMANN et al., 2002).

A análise do enraizamento adventício em estacas em grande número de espécies tem mostrado o reconhecimento de fases no processo com distintas características e requerimentos. Embora a divisão de fases possa variar de acordo com diferentes autores, a existência de três fases é consenso: 1. Indução: em que eventos morfológicos não são claramente visualizados, compreendendo, portanto, modificações moleculares e bioquímicas prévias àquelas morfológicas; 2. Iniciação: onde as divisões celulares acontecem, culminando na formação de meristemas e estabelecimento de primórdios radiculares; 3. Expressão: em que ocorre a emergência e crescimento dos primórdios radiculares (GENEVE, 1991; HARTMANN et al., 2002). Obviamente, como a formação de primórdios radiculares é um processo assíncrono, essas etapas podem se sobrepor temporalmente em estacas onde o enraizamento adventício esteja ocorrendo.

Os padrões anatômicos de enraizamento adventício podem ser diretos ou indiretos. No padrão direto preconiza-se a ocorrência de células competentes que, após a indução, iniciam as divisões celulares num padrão polar de diferenciação de primórdios, os quais são estabelecem conexões vasculares com a região vascular original. No padrão indireto da rizogênese adventícia há envolvimento de um estado inicial não-competente, em que as

células são inábeis a responder estímulos indutivos; após a indução, divisões celulares indiretas ocorrem com ocorrência de formação basípeta de calo, previamente à diferenciação dos primórdios (GENEVE, 1991; HARTMANN et al., 2002).

Muitos fatores podem afetar a rizogênese na propagação de plantas por meio da estaquia, como: o genótipo, a idade da planta-matriz, o estágio de maturação do ramo, a posição do ramo em que se extrai a estaca, o modo de preparação da estaca, a época do ano, o horário do dia em que se coletam os ramos na planta-matriz, o estado nutricional da planta-matriz e o ambiente de enraizamento. Além da umidade, temperatura, luz, composição física e química do substrato e estresses ambientais (KRAMER e KOZLOWSKI, 1972; HIGASHI et al., 2000; HARTMANN et al., 2002).

Dentre os principais fatores que podem afetar o enraizamento de estacas destacam-se as condições fisiológicas da planta, determinadas pela presença de carboidratos, substâncias nitrogenadas, auxinas, aminoácidos, compostos fenólicos e outras substâncias não identificadas. Essas substâncias são fornecidas pelas folhas e se acumulam na zona de regeneração das raízes. De acordo com HARTMANN et al. (2002), a relação carboidrato/nitrogênio, presente nas estacas, vem sendo utilizada para definir a capacidade do material em enraizar, sendo que quanto maior o valor observado da relação, maior o percentual de enraizamento obtido. Segundo esses mesmos autores, a presença de nitrogênio grande quantidade, nos tecidos vegetais promove o desenvolvimento, consumindo reservas em detrimento da formação de raízes. Barreiras em potencial podem restringir ou retardar o processo, incluindo a presença de fibras, bainha esclerenquimática, resina e canais secretores.

As auxinas, citocininas, giberelinas, ácido abscísico e o etileno pertencem ao grupo dos reguladores de crescimento mais conhecidos e de interesse para propagação de plantas. Enquanto as auxinas estimulam o enraizamento adventício, as citocininas que são produzidas nas raízes estimulam a divisão celular. O conhecimento do balanço hormonal citocinina/auxina é fundamental na propagação de plantas, ou seja, alta relação auxina/citocinina favorece o enraizamento; alta relação citocinina/auxina favorece a formação de brotações; já alto nível de ambas favorece o desenvolvimento de calo (HARTMANN et al., 2002). As giberelinas, embora não sejam essenciais à formação de raízes, inibem o enraizamento de estacas, provavelmente por estimular o crescimento vegetativo que compete com a formação de raízes (HARTMANN et al., 2002; ALFENAS et al., 2004). Em alguns casos, por exemplo, em leguminosas de ciclo curto, o etileno tem se mostrado o principal indutor do enraizamento adventício (TAIZ e ZEIGER, 2004).

Os primórdios das raízes adventícias iniciam-se por divisões de células do parênquima, células de calos ou de outros parênquimas, lembrando as divisões que dão origem às raízes laterais a partir do periciclo em raízes jovens. Antes do surgimento das raízes adventícias, há prévia diferenciação e organização de uma região promeristemática, de uma coifa, de um cilindro vascular e da região cortical. Por ocasião da diferenciação dos elementos vasculares das raízes adventícias, células de calos ou de outros parênquimas, localizadas na parte proximal do primórdio se diferenciam em elementos vasculares, estabelecendo a conexão com os elementos correspondentes do órgão em formação (ESAU, 1977; RAVEN et al., 2001).

Em estacas de plantas lenhosas, as raízes adventícias originam-se no tecido do floema secundário jovem ou de outros tecidos, como o câmbio vascular, os raios vasculares e a medula. Em plantas herbáceas, estas células encontram-se fora e entre os feixes vasculares, a exemplo de estacas de crisântemo cujas raízes adventícias se formam primeiro na região interfascicular. Em plantas de abóbora as raízes adventícias se originam a partir de células parenquimáticas o floema, em estacas *Rosa dilecta* as raízes adventícias se originam da faixa do câmbio imaturo, multisseriado dos raios do floema secundário. Em estacas de *Taxus cuspidata* essas raízes têm sua origem no floema secundário, nas células do raio e no parênquima floemático circundante. Em estacas herbáceas de caramboleira as raízes adventícias se originam a partir do câmbio vascular (HARTMANN et al., 2002; BASTOS, 2006).

De acordo com COUVILLON (1988) algumas espécies e cultivares têm maior facilidade no processo de enraizamento, enquanto outras necessitam de maiores cuidados, sendo levados em consideração outros fatores que possam influenciar o enraizamento.

FACHINELLO et al. (1995) observaram que as raízes formadas nas estacas são respostas ao traumatismo produzido pelo corte e que, dessa forma, dois aspectos são fundamentais: a desdiferenciação e a totipotência. Com o preparo da estaca, ocorre uma lesão tanto nos tecidos do xilema quanto nos do floema, resultando num traumatismo, que é seguido por um processo de cicatrização, formando uma capa de suberina, que reduz a desidratação na área lesionada. Nesta região, freqüentemente, se forma uma massa de células parenquimáticas desorganizadas, pouco diferenciadas e em diferentes estágios de lignificação, denominada calo. Assim, as células que se tornam meristemáticas dividem-se e originam primórdios radiculares, ocorrendo formação de raízes adventícias nas células adjacentes ao câmbio e ao floema.

Deve-se considerar que a formação de calo e de raízes são processos independentes na maioria das plantas, sendo que a ocorrência simultânea é devido à dependência de condições internas e ambientais semelhantes. Entretanto, em algumas plantas, a formação de calo pode ser precursora da formação de raízes adventícias, como no caso do enraizamento *in vitro* de gemas de *Eucalyptus globulus*, cujas raízes adventícias se originaram a partir de calos aos 12 dias de crescimento (HARTMANN et al., 2002; BALTIERRA et al., 2004).

A capacidade de formação de raízes pelas estacas caulinares, pode estar relacionada com a estrutura anatômica do floema. O floema das espécies de difícil enraizamento é caracterizado por apresentar elevado grau de esclerificação. Esse fator exerce influência direta na capacidade de enraizamento de várias espécies, sendo que o aumento do teor de lignina nos tecidos pode criar barreiras mecânicas, ou mesmo fisiológicas ao enraizamento (Davies Junior e Hartmann, 1988, citados por BASTOS, 2006).

Conforme RAVEN *et al.* (2001), o esclerênquima é um tecido de sustentação composto por células parenquimáticas, além de fibras e esclereídes. Os anéis de esclerênquima contínuos entre floema e córtex externos ao local de origem das raízes adventícias, podem constituir uma barreira anatômica ao enraizamento (HARTMANN et al., 2002).

Em plantas perenes lenhosas nas quais se encontra uma ou mais camadas de tecido do floema secundário, as raízes adventícias das estacas de ramos se originam geralmente do tecido do floema secundário jovem, entretanto essas raízes poderão surgir de outros tecidos, tais como: do câmbio, dos raios vasculares ou da medula. Nas espécies de difícil enraizamento, praticamente todas as raízes se originam do tecido cicatricial. Neste tecido as raízes surgem principalmente por divisões do câmbio e do parênquima liberiano ou de qualquer célula viva capaz de desdiferenciar (ALTMAN e WAISEL, 1996).

Algumas espécies como a seringueira, são consideradas de difícil enraizamento, devido à presença de um cilindro quase contínuo de tecidos lignificados, que juntamente com as barreiras químicas dificultam a emissão de raízes (MEDRADO *et al.*, 1995).

Embora alguns trabalhos mostrem que há uma resposta fisiológica ao problema do difícil enraizamento, é provável também que a diminuição na relação entre o tecido esclerenquimático e parenquimático promova condições para a formação de primórdios radiculares, além disso, a quebra da barreira de esclerênquima se não é um fator condicionante principal para o enraizamento, deve facilitar a passagem de primórdios radiculares (MEDRADO, 1992).

No entanto, apesar da evolução das pesquisas visando à maximização do enraizamento de *Eucalyptus*, pouco se conhece sobre os fundamentos biológicos da formação de raízes

adventícias no processo de enraizamento adventício. Mesmo com a utilização do processo de propagação vegetativa por miniestaquia adotada pela maioria das empresas florestais, cuja abordagem está dependente do conhecimento do padrão de rizogênese (tanto estrutural quanto em termos de velocidade de emissão de primórdios radiculares), o estudo anatômico é fundamental para dar suporte no entendimento científico de forma tal que novas abordagens de experimentações possam ser delineadas no sentido de maximização da propagação clonal.

Assim, dada a atual importância da propagação clonal de *Eucalyptus* e a carência de estudos anatômicos com miniestaquia, o presente estudo tem como objetivo conhecer o padrão da rizogênese de miniestacas de quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material experimental

Foram utilizados quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* provenientes da empresa International Paper do Brasil, localizada no Município de Mogi Guaçu, São Paulo. O clima dessa região é do tipo Cwa (tropical, úmido e mesotérmico), segundo a classificação de Köppen, com latitude de 22°21'S, longitude de 48°58'W e altitude média de 639 m. Apresenta precipitação média anual de 1.317 mm e temperatura média anual de 21 °C, com máxima média de 24 °C e mínima média de 16 °C.

Para a seleção desses clones foram considerados os percentuais de área plantada e de enraizamento desses materiais genéticos, dados esses fornecidos pelo Departamento de Pesquisa da referida empresa.

A partir de plantas obtidas pela técnica de miniestaquia, o minijardim clonal foi instalado no Viveiro Experimental da International Paper do Brasil, localizado em condições cobertas, constituído pelos quatro clones em estudo (H1, H2, H3 e H4).

2.2. Manejo do minijardim clonal

Conforme a técnica de miniestaquia (XAVIER e WENDLING, 1998; HIGASHI et al., 2000 e ASSIS et al., 2004) e de acordo com os procedimentos de manejo adotados pela empresa, o minijardim clonal foi constituído de minicepas, obtidas pelo enraizamento de miniestacas oriundas de brotações de plantas propagadas pelo método da microestaquia. As

miniéstacas 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 miniéstacas (brotações) para a realização do experimento.

O sistema de manejo do minijardim clonal adotado foi o utilizado comercialmente pela empresa e composto por canaletas de alumínio revestidas com fibra de vidro, sobre as quais permaneceram as minicepas, plantadas em tubetes dispostos em bandejas de isopor cobertas por plástico dupla fase. A irrigação e a nutrição mineral foram efetuadas através do sistema automatizado de fertirrigação por inundação, de maneira que somente o sistema radicular permanecia em contato com a solução nutritiva. A cada uma hora o sistema era acionado, irrigando por um período de 20 minutos e atingindo cerca de 6 cm de altura do tubete. Após esse período, a canaleta era esvaziada e a solução nutritiva retornava à caixa de armazenagem da solução, sendo esta trocada a cada sete dias.

Diariamente eram mensurados a Ec (condutividade elétrica, usada para medir a quantidade de sais presentes na solução) e o pH da solução. Neste período, a Ec variou de 2,00 a 2,40 mS cm⁻¹ e o pH, de 3,05 a 5,76. Em 500 litros de solução nutritiva, adicionaram-se 20 g de nitrato de amônio, 200 g de nitrato de cálcio, 108 g de sulfato de amônio, 60 g de micronutrientes obtidos pelo produto Quelatec AZ[®] e 740 g de Phytus Super K[®]. O Quelatec AZ[®] constitui-se de um quelato solúvel de micronutrientes composto por ferro, manganês, zinco e cobre na forma quelatada e por boro e molibdênio na forma mineral. Já o Phytus Super K[®] foi constituído de um fertilizante composto por NPK (00:40:20).

2.3. Obtenção, preparo, plantio e enraizamento das miniéstacas

As miniéstacas foram coletadas no minijardim clonal e acondicionadas em caixas de PVC transparente, mantidas fechadas. Para manter as condições de turgescência do material vegetativo, pulverizou-se água, utilizando uma bomba costal, em intervalos de dez minutos, até a etapa de enraizamento, quando, então, as miniéstacas foram preparadas com dimensões variando de 5 a 7 cm de comprimento e com um par de folhas, tendo a área foliar sido reduzida à metade de sua dimensão original.

O período compreendido entre o preparo das miniéstacas e plantio no substrato, na casa de vegetação, foi sempre inferior a 30 minutos.

No enraizamento das miniéstacas, utilizaram-se como recipientes tubetes plásticos de 55 cm³ de capacidade, contendo substrato constituído de partes iguais de vermiculita de

granulometria fina e casca de arroz carbonizada. A nutrição mineral utilizada no substrato foi composta por 4,0 kg m⁻³ de Fosmag 500B (MANAH, São Paulo) composto por 4% de N, 14% de P, 7% de K, 14% de Ca, 9% de S, 2% de Mg e 0,5% de B; 5,40 kg m⁻³ de NPK (32:00:03) e 3,06 kg m⁻³ de cloreto de potássio.

O processo de enraizamento das miniestacas foi conduzido em casa de vegetação climatizada (umidade relativa do ar \geq 80% e temperatura em torno de 27 °C) com permanência de 12 dias, referente ao último tratamento utilizado.

2.4. Avaliações experimentais

Para observar histologicamente os processos de rizogênese das miniestacas, foram coletadas amostras por clone para cada tratamento, sendo T1 - miniestacas coletadas sem efetuar o plantio no substrato; T2 - miniestacas coletadas com 01 dia após o plantio; T3 - miniestacas com 02 dias após o plantio; T4 - miniestacas com 04 dias após o plantio; T5 - miniestacas com 06 dias após o plantio; T6 - miniestacas com 08 dias após o plantio; T7 - miniestacas com 10 dias após o plantio e T8 - miniestacas com 12 dias após o plantio.

Foram retiradas aleatoriamente dez amostras por clone por tratamento e fixadas em FAA 70% durante 24 horas, sob vácuo. Em seguida, essas amostras foram colocadas em álcool etílico 70% (v/v), onde permaneceram armazenadas, sendo novamente submetidas a vácuo por 24 horas. A partir deste ponto, as amostras foram levadas ao Laboratório de Anatomia Vegetal, do Departamento de Biologia Vegetal (DBV) da UFV para o processamento das amostras e montagem de laminário referência.

As amostras foram desidratadas em série etílica e incluídas em metacrilato (Historesin[®], Leica). Seções transversais e longitudinais de 8 µm de espessura na região basal das miniestacas foram obtidas em micrótomo rotativo de avanço automático (RM 2155-Leica), coradas em azul de toluidina pH 4,0 (O'BRIEN e McCULLY, 1981), sendo as lâminas montadas em resina sintética (Permount[®]).

A documentação fotográfica das lâminas foi realizada utilizando-se o microscópio Olympus AX70, conectado a um sistema de fotomicrografia Olympus U-Photo do Laboratório de Anatomia Vegetal, do Departamento de Biologia Vegetal da UFV.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

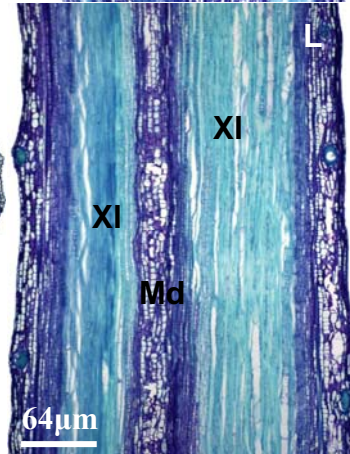
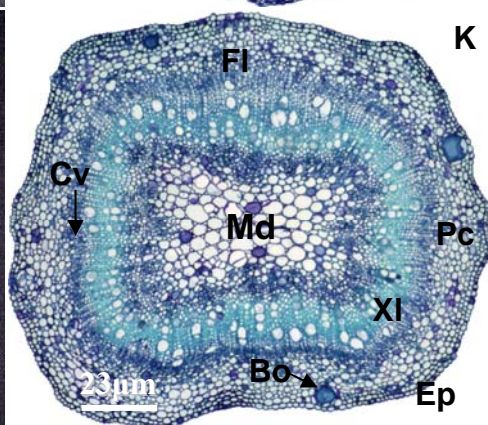
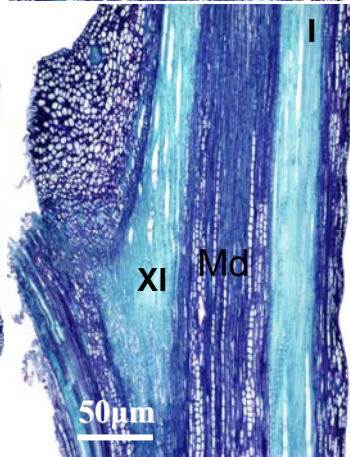
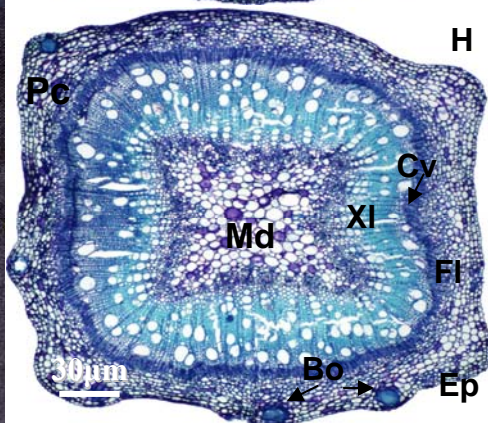
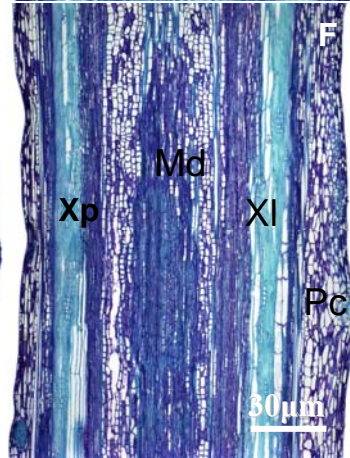
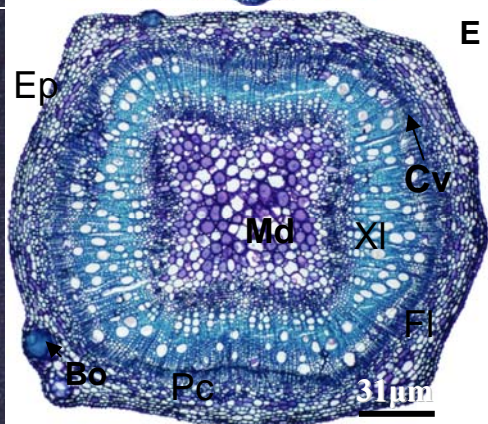
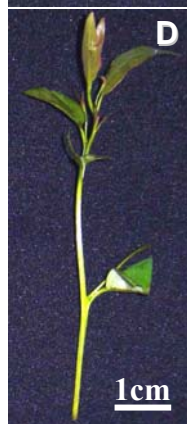
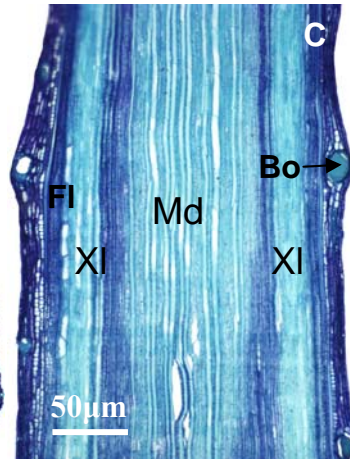
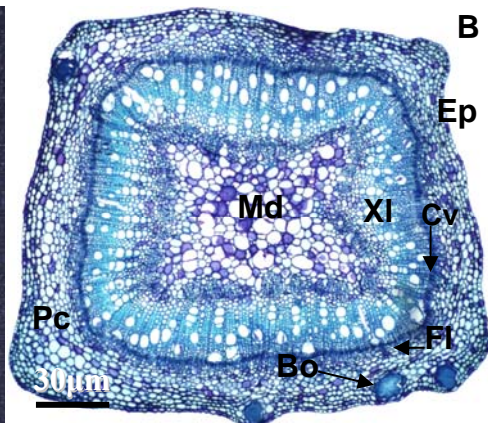
As caracterizações anatômicas e histológicas da rizogênese das miniestacas de cada tratamento foram agrupadas por clone.

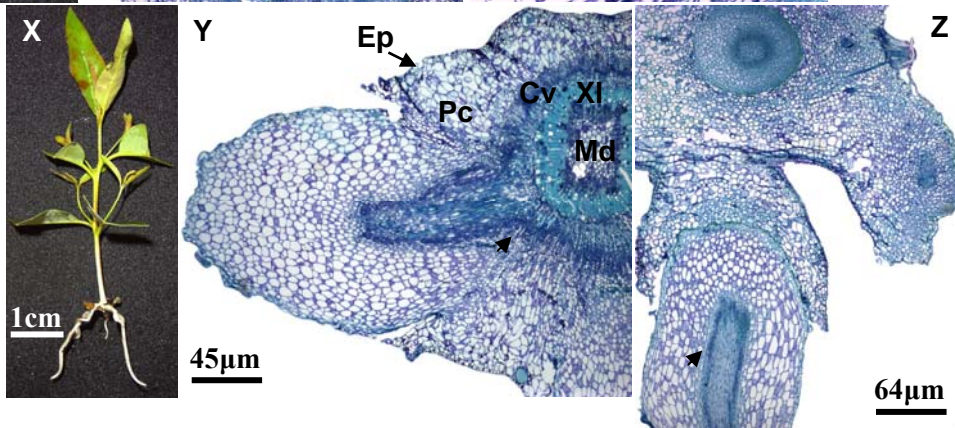
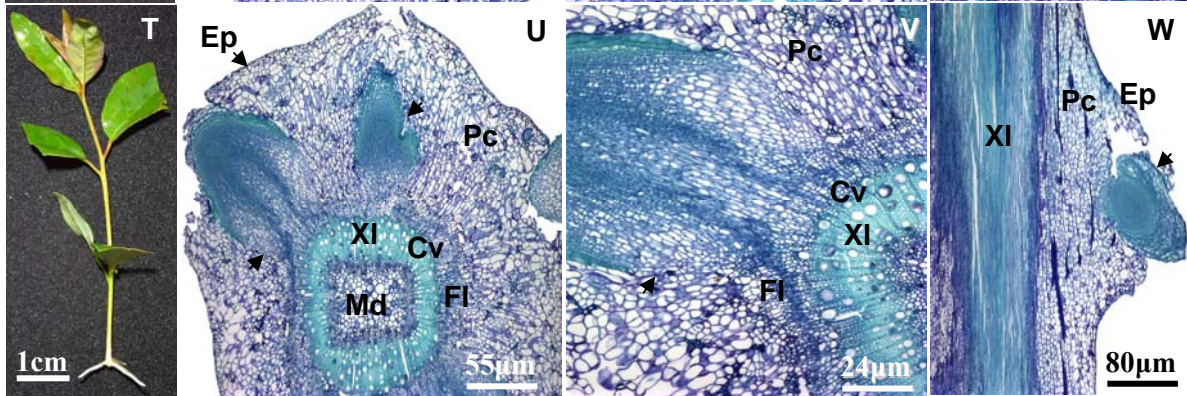
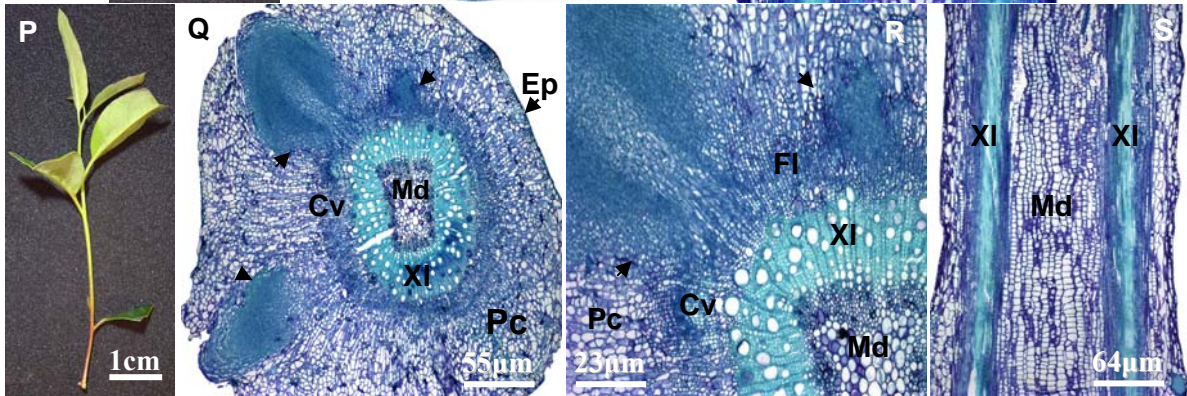
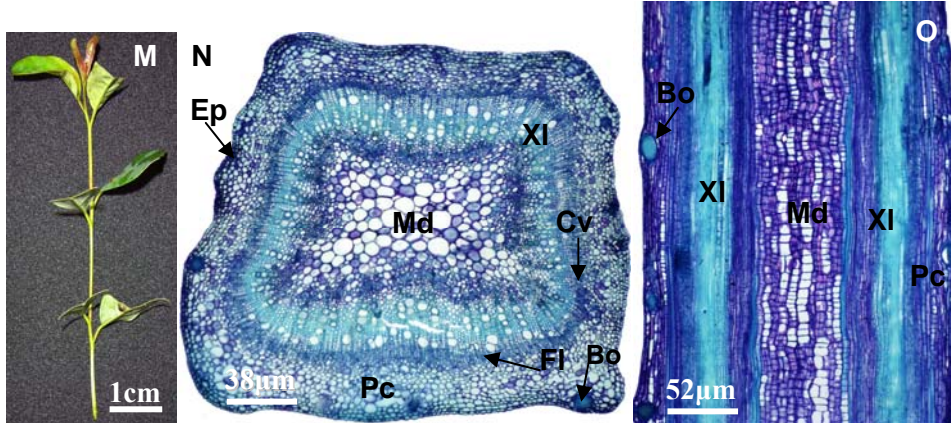
Na Figura 1, observa-se a representação da miniestaca do clone H1 em diferentes fases de desenvolvimento, conforme os tratamentos adotados. Verificou-se a presença de epiderme (Ep) e na região cortical a diferenciação de bolsas de óleo (Bo). O córtex corresponde à região compreendida entre a epiderme e a região vascular, sendo formado por células parenquimáticas com paredes finas (parênquima cortical, Pc), que tem como função revestimento e em alguns casos o acúmulo de reservas para as células. Há presença de região vascular, decorrente da atividade do câmbio vascular (Cv), sendo formada por células do xilema secundário (Xl) e do floema secundário (Fl). No centro dos cortes transversais, observou-se a presença da medula (Md), característica do caule de dicotiledôneas, formada por células parenquimáticas.

Nos cortes realizados na região basal das miniestacas com até 6 dias de enraizamento na casa de vegetação (Figuras 1A-O) não foi verificado a formação do primórdio radicular. No entanto, a partir de 8 dias de enraizamento na casa de vegetação (Figura 1P-Z) verificou-se nos cortes transversal e longitudinal o desenvolvimento e formação endógena de primórdios radiculares a partir do câmbio vascular. Tal fato pode estar relacionado com a capacidade das células do câmbio vascular desdiferenciarem-se, tornando-se meristemáticas. Assim, com as sucessivas divisões celulares, ocorre a formação do primórdio radicular com origem endógena em direção à superfície da estaca. Não foi observada a formação de calo.

O sucesso do enraizamento se deve principalmente a dois fatores: à tendência destas estacas de enraizar com mais facilidade, pois apresentam tecidos mais tenros, não havendo a presença de um anel de esclerênquima lignificado, que dificultaria a emissão dos primórdios radiculares (FACHINELLO et al., 1995) e as características intrínsecas à genética do clone, visto que este clone (H1) apresenta satisfatório porcentual de enraizamento das miniestacas aos 35 dias de idade (93,1%) sem a utilização de antioxidantes, auxinas e seus cofatores.

Figura 1 - Miniestacas e micrografias de cortes histológicos do clone H1 após os tratamentos: miniestacas coletadas sem efetuar o plantio no substrato (**A**, **B** e **C**); miniestaca coletadas com 1 dia após o plantio (**D**, **E** e **F**); miniestaca com 2 dias após o plantio (**G**, **H** e **I**); miniestaca com 4 dias após o plantio (**J**, **K** e **L**); miniestaca com 6 dias após o plantio (**M**, **N** e **O**); miniestaca com 8 dias após o plantio (**P**, **Q**, **R** e **S**); miniestaca com 10 dias após o plantio (**T**, **U**, **V** e **W**); miniestaca com 12 dias após o plantio (**X**, **Y** e **Z**). **B**, **E**, **H**, **K**, **N**, **Q**, **R**, **U**, **V** e **Y**: cortes transversais das miniestacas. **C**, **F**, **I**, **L**, **O**, **S**, **W** e **Z**: cortes longitudinais das miniestacas. **R** e **V**: detalhes do corte transversal da miniestaca mostrando o desenvolvimento e a formação endógena do primórdio radicular a partir do câmbio vascular (**Cv**). **Ep** = epiderme; **Pc** = parênquima cortical; **Xl** = xilema secundário; **Fl** = floema secundário; **Md** = medula; **Bo** = bolsa de óleo.

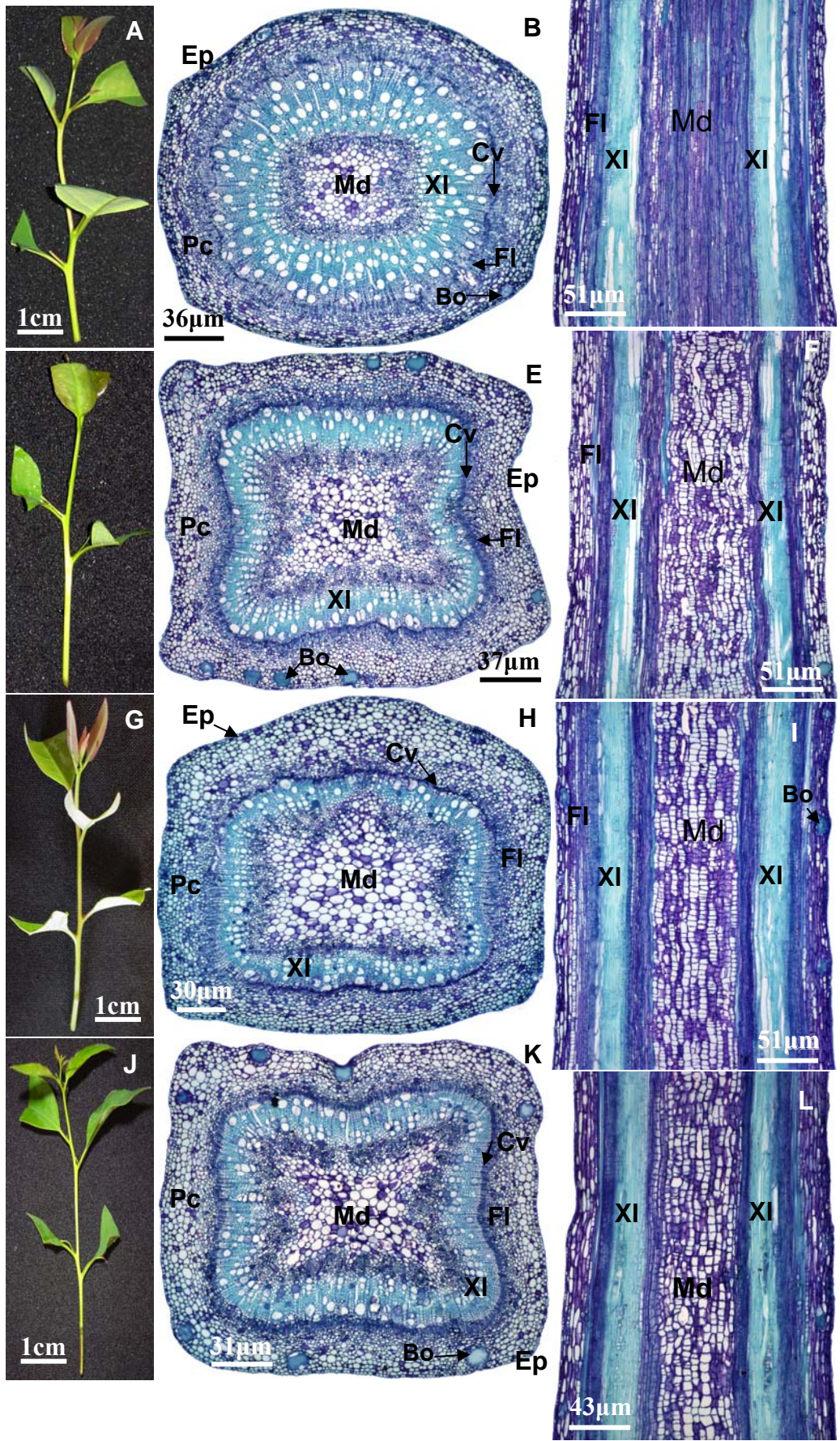


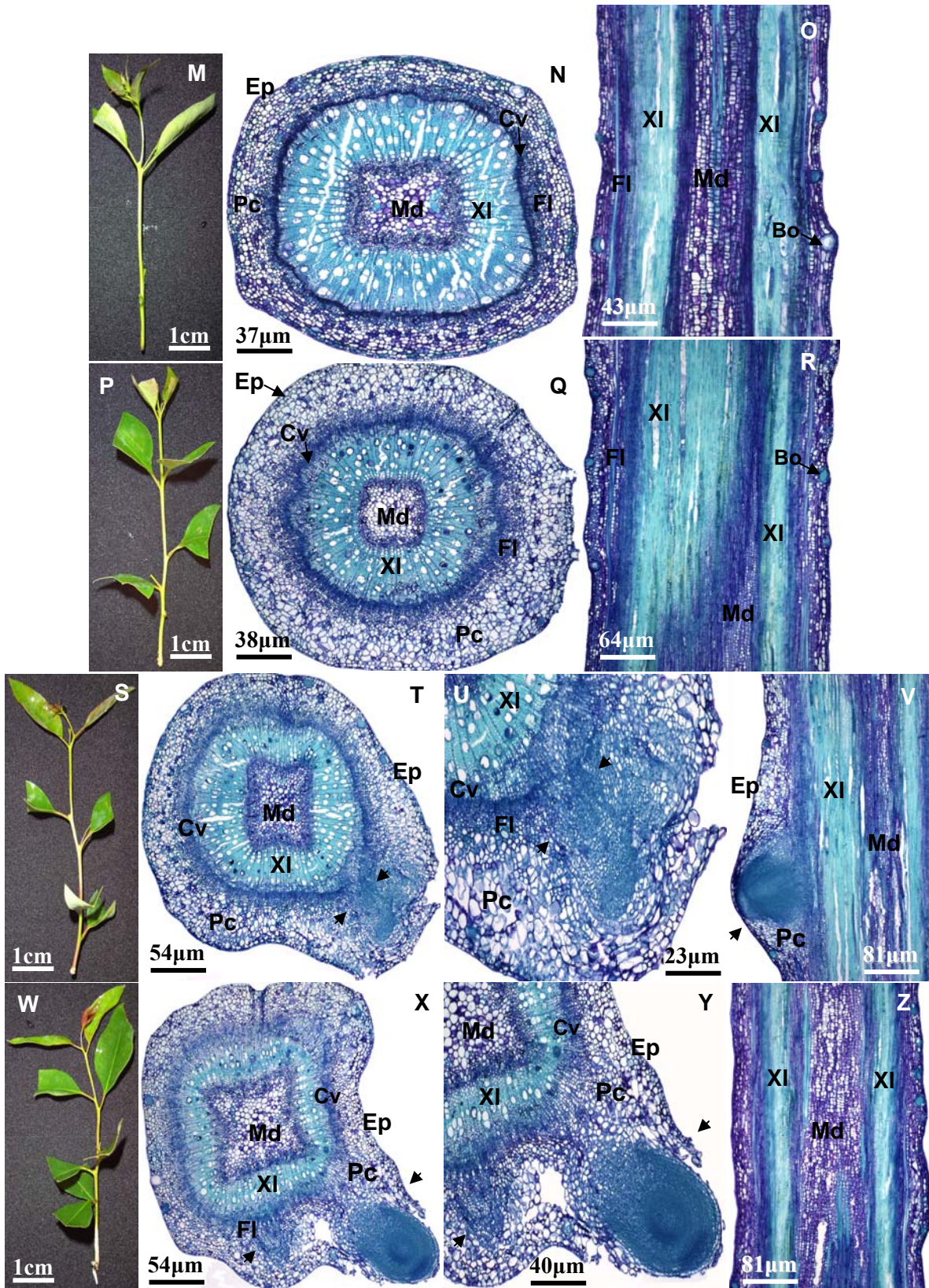


Para o clone H2, verificou-se a presença de Ep, do Cv localizado logo abaixo do Pc, bem ainda a presença de bolsas de óleo (Bo). Há presença de feixes vasculares, formados por células do XI e do Fl. No centro dos cortes transversais, nota-se a presença da região medular (Md).

Nos cortes realizados na região basal das miniestacas com até 8 dias de enraizamento na casa de vegetação (Figuras 2A-R) não foi verificado a formação do primórdio radicular. A partir de 10 dias de enraizamento das miniestacas na casa de vegetação (Figura 2S-Z) verificou-se nos cortes transversal e longitudinal o desenvolvimento e formação endógena de primórdios radiculares a partir do câmbio vascular, não sendo observado a formação de calo.

Figura 2 - Miniestacas e micrografias de cortes histológicos do clone H2 após os tratamentos: miniestacas coletadas sem efetuar o plantio no substrato (**A**, **B** e **C**); miniestaca coletadas com 1 dia após o plantio (**D**, **E** e **F**); miniestaca com 2 dias após o plantio (**G**, **H** e **I**); miniestaca com 4 dias após o plantio (**J**, **K** e **L**); miniestaca com 6 dias após o plantio (**M**, **N** e **O**); miniestaca com 8 dias após o plantio (**P**, **Q** e **R**); miniestaca com 10 dias após o plantio (**S**, **T**, **U** e **V**); miniestaca com 12 dias após o plantio (**W**, **X**, **Y** e **Z**). **B**, **E**, **H**, **K**, **N**, **Q**, **T**, **U**, **X** e **Y**: cortes transversais das miniestacas. **C**, **F**, **I**, **L**, **O**, **R**, **V** e **Z**: cortes longitudinais das miniestacas. **U** e **Y**: detalhes do corte transversal da miniestaca mostrando o desenvolvimento e a formação endógena do primórdio radicular a partir do câmbio vascular (Cv). Ep = epiderme; Pc = parênquima cortical; Xl = xilema secundário; Fl = floema secundário; Md = medula; Bo = bolsa de óleo.



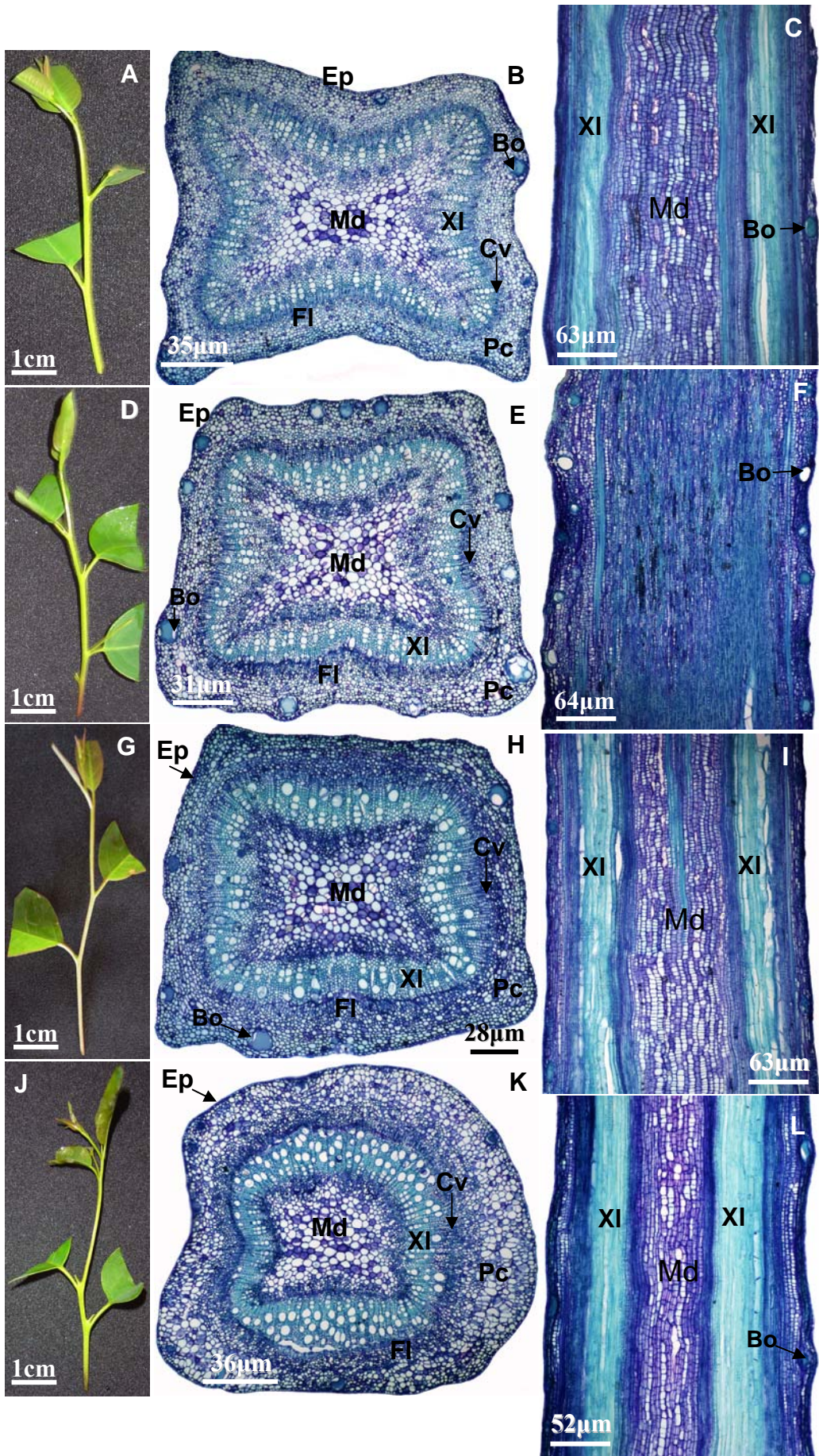


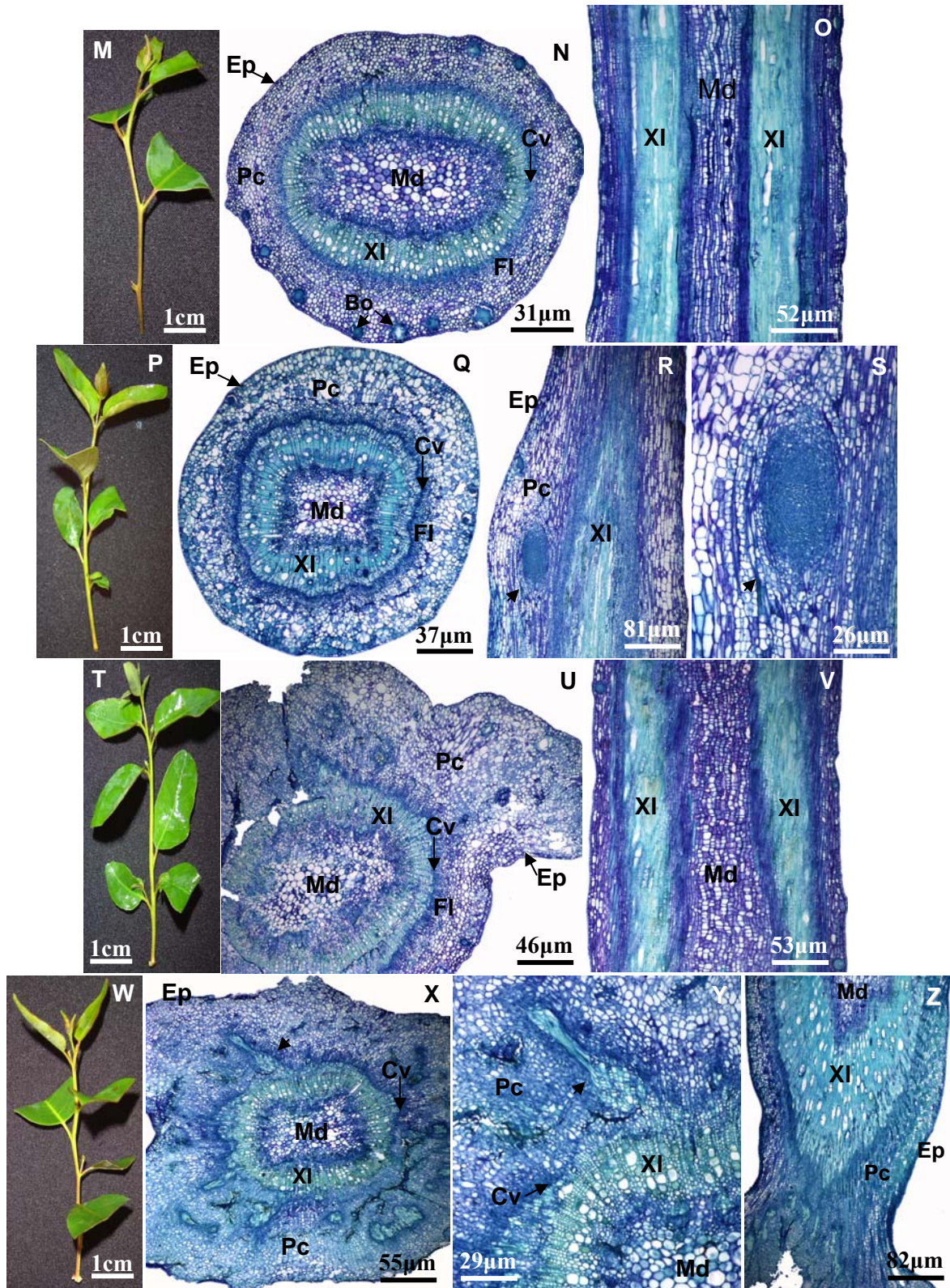
Para o clone H3, verificou-se também a presença de Ep, como tecido de revestimento, do Cv e de Xp para o interior e Fl para o exterior, de um Pc evidente com Bo e, na região central, a presença da Md.

Nos cortes realizados na região basal das miniestacas com até 6 dias de enraizamento na casa de vegetação (Figuras 3A-O) não foi verificado a formação do primórdio radicular. Aos 8 dias de enraizamento não foi obtido nenhum corte transversal das miniestacas avaliadas que comprovasse a formação endógena de primórdios radiculares, contudo este fato foi observado no corte longitudinal verificando um primórdio radicular seccionado transversalmente (Figuras 3R,S).

A partir de 10 dias de enraizamento das miniestacas na casa de vegetação (Figura 3T-Z) verificou-se nos cortes transversal e longitudinal a proliferação e a formação de uma massa de células desorganizadas (calos) próximo ao câmbio vascular, não sendo observado em todas as miniestacas avaliadas o desenvolvimento de raízes diretamente do calo ou a formação endógena de primórdios radiculares a partir do câmbio vascular. Este fato pode estar relacionado ao balanço hormonal endógeno entre citocinina/auxina, favorecendo o desenvolvimento de calos na região basal das miniestacas (HARTMANN et al., 2002), já que as miniestacas não foram tratadas com regulador de crescimento.

Figura 3 - Miniestacas e micrografias de cortes histológicos do clone H3 após os tratamentos: miniestacas coletadas sem efetuar o plantio no substrato (**A**, **B** e **C**); miniestaca coletadas com 1 dia após o plantio (**D**, **E** e **F**); miniestaca com 2 dias após o plantio (**G**, **H** e **I**); miniestaca com 4 dias após o plantio (**J**, **K** e **L**); miniestaca com 6 dias após o plantio (**M**, **N** e **O**); miniestaca com 8 dias após o plantio (**P**, **Q**, **R** e **S**); miniestaca com 10 dias após o plantio (**T**, **U** e **V**); miniestaca com 12 dias após o plantio (**W**, **X**, **Y** e **Z**). **B**, **E**, **H**, **K**, **N**, **Q**, **U**, **X** e **Y**: cortes transversais das miniestacas. **C**, **F**, **I**, **L**, **O**, **R**, **S**, **V** e **Z**: cortes longitudinais das miniestacas. **S**: detalhe do corte longitudinal da miniestaca mostrando um primórdio radicular seccionado transversalmente. **Y**: detalhe do corte transversal da miniestaca mostrando a proliferação e a formação de uma massa de células desorganizadas (calos) próximo ao câmbio vascular (**Cv**). **Ep** = epiderme; **Pc** = parênquima cortical; **Xl** = xilema secundário; **Fl** = floema secundário; **Md** = medula; **Bo** = bolsas de óleo.





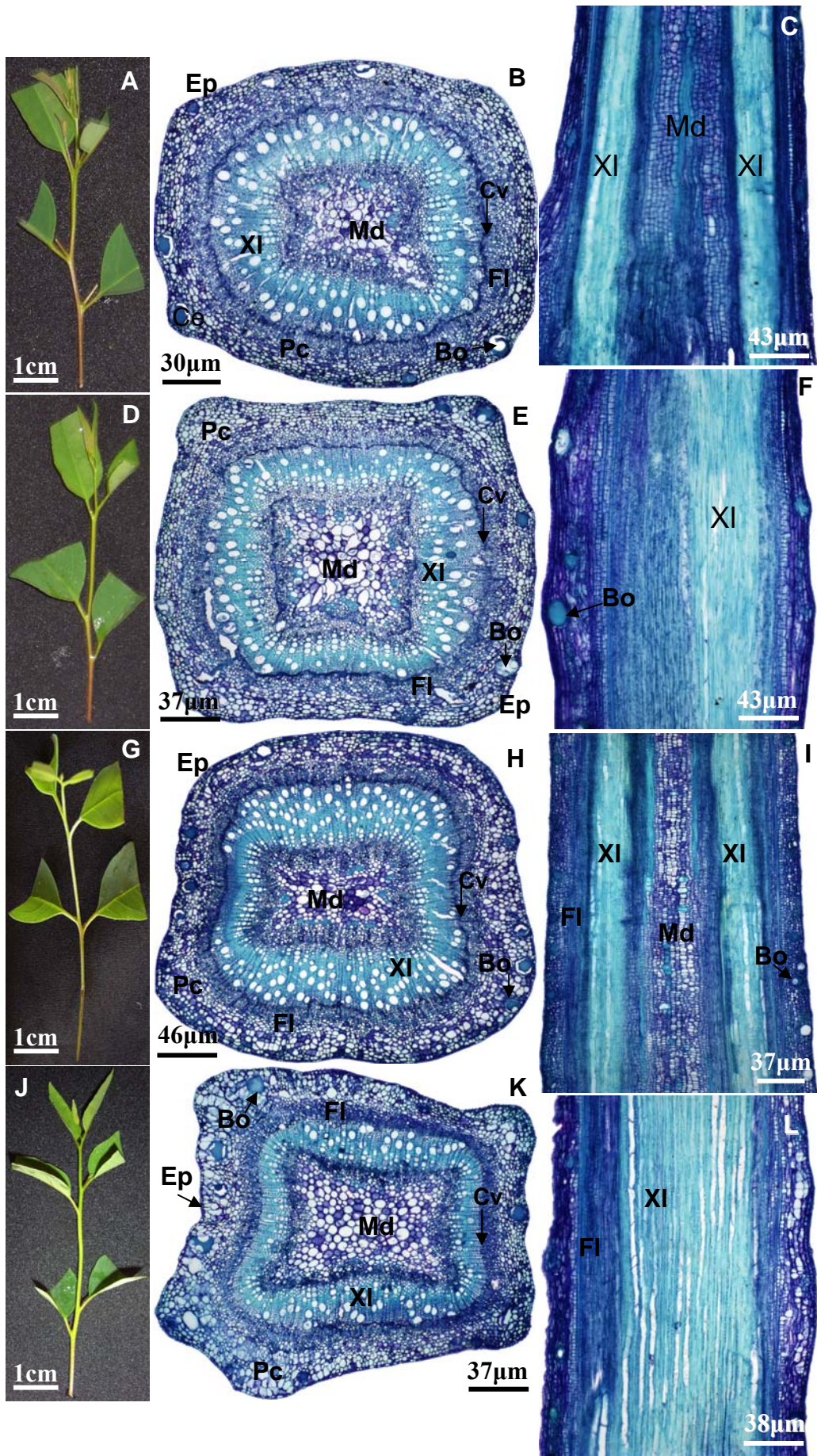
Para o clone H4, o padrão de diferenciação inicial dos tecidos seguiu ao observado para os demais clones. Todavia, nos cortes realizados na região basal das miniestacas com até 8 dias de enraizamento na casa de vegetação (Figuras 4A-R) não foi verificado a formação do primórdio radicular.

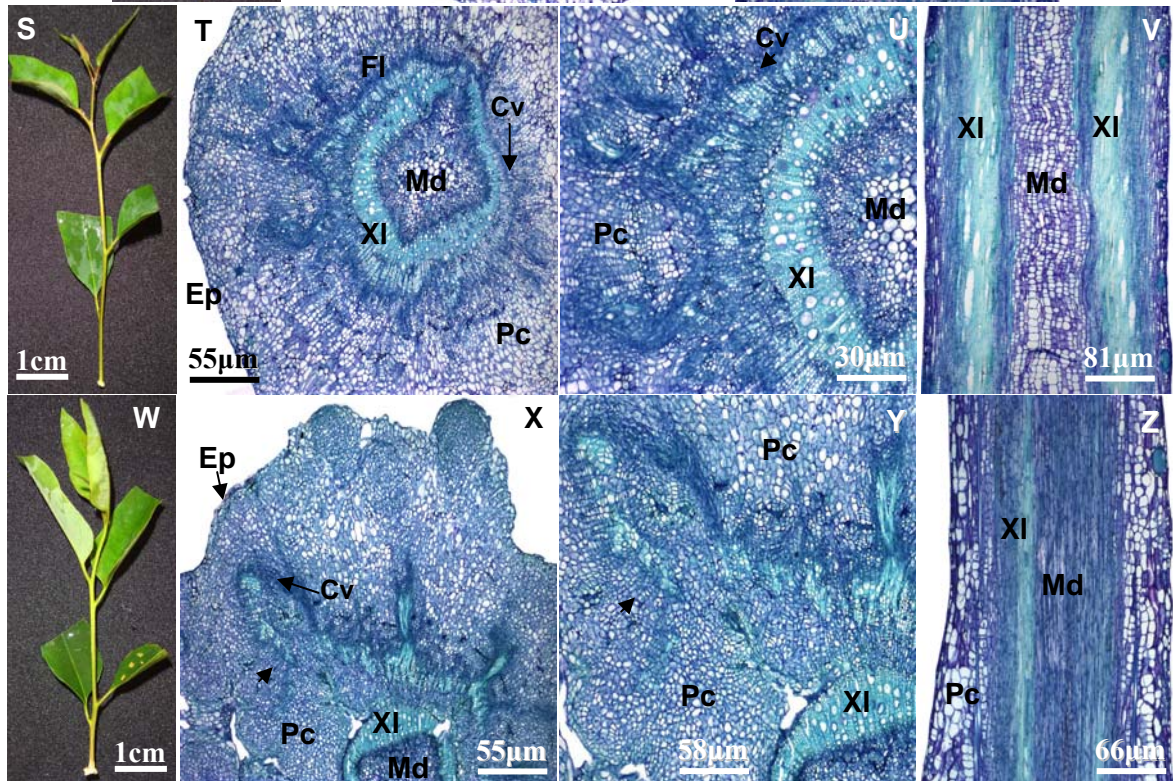
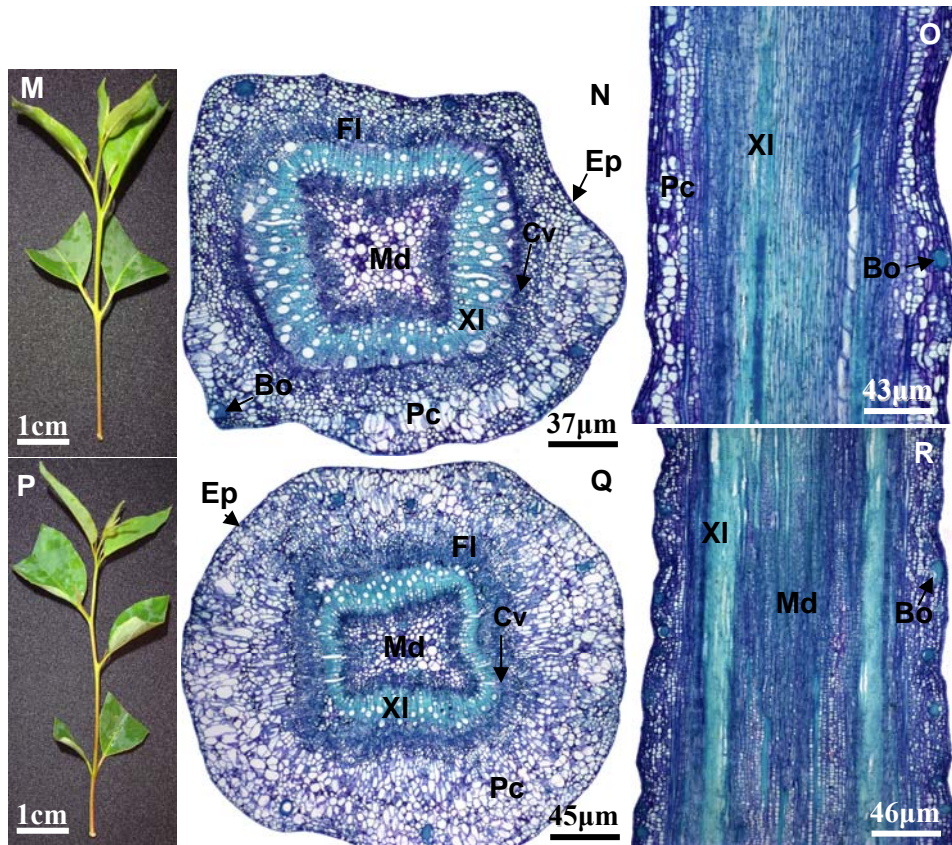
A partir de 10 dias de enraizamento das miniestacas na casa de vegetação (Figura 4S-Z) verificou-se nos cortes transversal e longitudinal a proliferação e a formação de calos próximos ao câmbio vascular, não sendo observado em todas as miniestacas avaliadas o desenvolvimento de raízes diretamente do calo ou a formação endógena de primórdios radiculares a partir do câmbio vascular. Este fato também pode estar relacionado ao balanço hormonal endógeno entre citocinina/auxina, favorável ao desenvolvimento de calos na região basal das miniestacas (HARTMANN et al., 2002), já que as miniestacas também não foram tratadas com reguladores de crescimento. Além disso, para o clone H4, em especial, o fator genotípico também deve ser considerado, já que apresentar baixo porcentual de enraizamento quando comparado com os outros clones estudados e além do mais até o momento desta pesquisa não existia um protocolo de manejo para maximização da produção de plantas deste clone.

Alguns estudos que relatam os processos de enraizamento *in vitro* em essências florestais indicam que as raízes são usualmente originárias de células parenquimáticas e floema secundário, mas elas também podem se originar a partir de outros tecidos como raios vasculares, câmbio, floema, lenticelas ou medula (GINZBURG, 1967; HARTMANN et al., 2002; BALTIERRA et al., 2004).

BALTIERRA et al. (2004) verificaram que no enraizamento *in vitro* de *Eucalyptus globulus* as raízes adventícias se originaram a partir de calos aos 12 dias, completando o processo de rizogênese aos 15 dias de crescimento em meio de cultura MS. A formação *in vitro* de raízes foi variada podendo ser originada de tecidos vasculares mais desenvolvidos ou de tecidos jovens que originarão o xilema, sendo que a maioria das mudanças ocorridas no parênquima cortical pode conduzir a formação *in vitro* e crescimento de raízes adventícias em *E. globulus*.

Figura 4 - Miniestacas e micrografias de cortes histológicos do clone H4 após os tratamentos: miniestacas coletadas sem efetuar o plantio no substrato (**A, B e C**); miniestaca coletadas com 1 dia após o plantio (**D, E e F**); miniestaca com 2 dias após o plantio (**G, H e I**); miniestaca com 4 dias após o plantio (**J, K e L**); miniestaca com 6 dias após o plantio (**M, N e O**); miniestaca com 8 dias após o plantio (**P, Q e R**); miniestaca com 10 dias após o plantio (**S, T, U e V**); miniestaca com 12 dias após o plantio (**W, X, Y e Z**). B, E, H, K, N, Q, T, U, X e Y: corte transversal das miniestacas. C, F, I, L, O, R, V e Z: cortes longitudinais das miniestacas. U e Y: detalhes do corte transversal da miniestaca mostrando a proliferação e a formação de calo nas proximidades do câmbio vascular (Cv). Ep = epiderme; Pc = parênquima cortical; Xl = xilema secundário; Fl = floema secundário; Md = medula; Bo = bolsas de óleo.





4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos e as condições em que foi realizado o experimento, conclui-se que foram observadas a formação endógena de primórdios radiculares e a proliferação e a formação de uma massa de células desorganizadas (calos) em miniestacas de clones *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* com até 12 dias de idade, a partir do câmbio vascular.

O clone H1 se destacou dos demais clones quanto a velocidade de emissão do primórdio radicular, sendo constatado a partir dos 8 dias de idade das miniestacas avaliadas. No clone H2, observou-se a presença de primórdios radiculares a partir de 10 dias de idade das miniestacas. No clone H3, foram constatadas a presença de primórdios radiculares a partir de 8 dias e a proliferação e a formação de calos a partir de 10 dias de idade das miniestacas. Já no clone H4, não foi verificado a formação do primórdio radicular até aos 12 dias de idade das miniestacas, apenas a proliferação e a formação de calos.

5. REFERÊNCIAS

ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: UFV, 2004. 442 p.

ALTMAN, A.; WAISEL, Y. Biology of root formation and development. In: International Symposium on the Biology of Root Formation and Development, 2, 1996, Jerusalem. **Proceedings...** New York: Plenum, 1996. 376 p.

ASSIS, T.; FETT-NETO, A. G.; ALFENAS, A. C. Current techniques and prospects for the clonal propagation of hardwoods with emphasis on *Eucalyptus*. In: Walters C, Carson M (Eds.). **Plantation Forest Biotechnology for the 21st Century**, Research Signpost, India, 2004. p. 303-333.

BALTIERRA, X. C.; MONTENEGRO, G.; GARCÍA, E. Ontogeny of *in vitro* rooting processes in *Eucalyptus globulus*. **In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, v. 40, p. 499-503, 2004.

BASTOS, D. C. **Propagação de caramboleira por estacas caulinares e caracterização anatômica e histológica da formação de raízes adventícias**. ESALQ/USP: Piracicaba. 2006. 65 f. Tese (Doutorado em Agronomia).

COUVILLON, G. A. Rooting responses to different treatments. **Acta Horticulturae**, v. 227, p. 187-196, 1988.

ESAU, K. **Anatomy of seed plants**. 2nd Ed. New York, John Wiley, 1977. 550 p.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G. R. L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Pelotas: UFPel, 1995. 179 p.

GENEVE, R.L. Patterns of adventitious root formation in English Ivy. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 10, p. 216-220, 1991.

GINZBURG, C. Organization of the adventitious root apex in *Tamarix aphylla*. **American Journal of Botany**, v. 54, p. 4-8, 1967.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2002. 880 p.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. A.; GONÇALVES, A. N. **Propagação vegetativa de *Eucalyptus***: princípios básicos e a sua evolução no Brasil. Piracicaba, SP: IPEF, 2000. 11 p. (Circular Técnica, 192).

KRAMER, P. J.; KOZLOWSKI, T. T. **Fisiologia das árvores**. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 1972. 745 p.

MEDRADO, M. S. J. **Fatores relacionados ao processo de propagação da seringueira (*Hevea spp.*) em Piracicaba, SP**. Piracicaba, SP: ESALQ/USP, 1992. 178 f. Tese (Doutorado em Agronomia).

MEDRADO, M. S. J.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; COSTA, J. D. Alterações anatômicas em estacas de seringueira (*Hevea brasiliensis* clone RRIM 600) em resposta a diferentes técnicas de indução de enraizamento. **Scientia Agrícola**, v. 52, n. 1, p. 89-95, 1995.

O'BRIEN, T. P.; MCCULLY, M. E. **The study of structure principles and selected methods**. Melbourne: Termarcaphi Pty. LTD, 1981, 280p.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro, RJ: Ed. Guanabara Koogan, 2001. 906 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p

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

3. CONCLUSÕES GERAIS

Com base nos objetivos definidos neste estudo e buscando avaliar a influência do acondicionamento e de antioxidantes, auxinas e seus cofatores no enraizamento adventício, bem como o padrão da rizogênese de miniestacas de quatro clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*, os resultados permitiram as seguintes conclusões:

Estudos utilizando novas doses de AIB, de antioxidantes e de cofatores, bem como sua avaliação em diferentes fases de desenvolvimento das miniestacas e em épocas diferentes do ano, são necessários. A utilização do AIB nas doses entre 500 e 2.000 mg L⁻¹ mostrou-se mais eficiente do que o ANA nos quatro clones estudados. Quanto ao uso de antioxidantes, o PVP foi eficiente em todos os clones, sendo que o ácido ascórbico e o carvão ativado foram mais eficientes em apenas um deles. Dentre os cofatores, verificou-se que o ácido clorogênico e a hidroquinona melhoraram os índices de enraizamento e de sobrevivência de três clones; a fenilalanina e o floroglucinol melhoraram os referidos índices de dois clones; e somente o ácido cafeico, o triptofano e, principalmente, a prolina melhoraram essas respostas em todos os clones estudados.

Independentemente do material genético estudado, observou-se que não é aconselhável o armazenamento das miniestacas em câmara fria, mesmo quando realizado por curto período de tempo, assim como o modo de acondicionamento influenciou o enraizamento adventício das miniestacas.

Quanto ao conhecimento do padrão da rizogênese das miniestacas dos clones estudados foi observada a origem endógena de primórdios radiculares, a proliferação e a formação de uma massa de células desorganizadas (calos) em miniestacas com até 12 dias de idade, sendo que um clone destacou-se dos demais por apresentar primórdios radiculares a partir de 8 dias após o plantio das miniestacas.