

**RELAÇÃO ENTRE SAZONALIDADE, DESRAMA E CARBOIDRATOS NO  
CRESCIMENTO DO EUCALIPTO NA PROPAGAÇÃO VEGETATIVA POR  
MINIESTAQUIA**

**ANA GABRIELA MONTAN TORRES**

Dissertação apresentada à Escola Superior de  
Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade  
de São Paulo, para obtenção do título de  
Mestre em Recursos Florestais, Área de  
Concentração: Recursos Florestais, com  
opção em Manejo de Florestas de Produção.

**PIRACICABA**

Estado de São Paulo - Brasil

Julho - 2003

**RELAÇÃO ENTRE SAZONALIDADE, DESRAMA E CARBOIDRATOS NO  
CRESCIMENTO DO EUCALIPTO NA PROPAGAÇÃO VEGETATIVA POR  
MINIESTAQUIA**

**ANA GABRIELA MONTA TORRES**

Engenheiro Florestal

Orientador: Prof. Dr. **ANTONIO NATAL GONÇALVES**

Dissertação apresentada à Escola Superior de  
Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade  
de São Paulo, para obtenção do título de  
Mestre em Recursos Florestais, Área de  
Concentração: Recursos Florestais, com  
opção em Manejo de Florestas de Produção.

**PIRACICABA**

Estado de São Paulo - Brasil

Agosto - 2003

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Torres, Ana Gabriela Montan

Relação entre sazonalidade, desrama e carboidratos no crescimento do eucalipto na propagação vegetativa por miniestaquia / Ana Gabriela Montan Torres. -- Piracicaba, 2003.

65 p.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2003.

Bibliografia.

1. Carboidratos 2. Crescimento vegetal 3. Estacas (Plantas) 4. Eucalipto 5. Fisiologia vegetal 6. Manejo florestal 7. Propagação vegetal I. Título

CDD 634.9734

**“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”**

## DEDICATÓRIA

À D Cidinha e Sr Joel (pela vida, TODAS as vezes!), à Gisele (pela alegria da infância e pelo Lucas), ao Rafael (pela hombridade e retidão de caráter), à Raquelzinha (pelo amor maior e por todo colorido), à Juliana ("o feitiço é ser feliz!") e Zé Alexandre queridos irmãos de coração, ao Rodrigo (pela comunhão das nossas vidas) e à grandiosa Victória Spinelli Baptista (*in memoriam*)

## AGRADECIMENTOS

À Gloriosa Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), em especial ao Departamento de Ciências Florestais.

Ao Pesquisador Dr. Gustavo Souza Maia por todo apoio, sugestões, correções, críticas, paciência, por toda orientação.

À Aracruz Celulose S.A. pelo incentivo e permissão do desenvolvimento deste trabalho. Agradecimentos especiais a Andreia Henrique, Carlos Augusto da Silva, Ergílio Claudio-da-Silva Júnior, Fernando de Lellis Bertolucci, Kátia Cyrlene Vasconcelos, Marcelo Santos Ambrogi, Paulo César Guimarães, Ricardo Miguel Penchel Filho e a toda equipe do Centro de Pesquisa e Tecnologia e do Viveiro.

Aos excepcionais Profs. Drs José Luiz Stape e Fernando Seixas, pelo incentivo e ensinamentos durante toda graduação. Aos dois todo meu respeito e admiração.

Ao Prof. Dr. Antonio Natal Gonçalves pelos ensinamentos e orientação.

Aos Profs. Drs. Sônia Maria de Stefano Piedade e Marcílio de Almeida pela participação na Banca Examinadora e de Qualificação, por todas as críticas, correções e sugestões.

Aos amigos do LCF: Fátima, Marga, Igor, Daniel, Evandro, Marialice, Paulinho, Olicina, Jeferson, por toda colaboração, eficiência e prestatividade.

A toda equipe da Biblioteca Central da ESALQ, por toda competência.

Aos queridos amigos "capixabas" (Adriana, Ana Paula, Aurélio, Elias, Giselle, Gislayne, Matheus, Rosária, Thaís e Zilda), mas em especial as quatro meninas: Ana

Paula Corrêa do Carmo (pelas "aulas" de inglês, pelo notebook, material bibliográfico, etc), Adriana Leandra de Assis, Rosária Luísa Manieri e Thaís Cunha Ferreira. Obrigada pela convivência, conversas, risos, brincadeiras, por terem deixado um pedacinho de cada uma de vocês quatro comigo.

Jú, muito obrigada por TUDO!!! Pelo material bibliográfico, pelas correções na configuração, pela entrega do material na Biblioteca, por toda correria, pelo inesquecível lanche de Itatinga, por toda sua colaboração neste trabalho.

Aos meus pais e irmãos por toda compreensão, amor, respeito, cumplicidade e paciência para comigo. Obrigada por TUDO!!!

Mas, em especial aos grandes e natos Pesquisadores Gustavo Souza Maia e Ricardo Miguel Penchel Filho, pela colaboração não apenas neste trabalho, mas pela contribuição para com a comunidade científica.

À DEUS pelo dom da vida.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	x
SUMMARY.....	xii
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Hipótese do trabalho e objetivo.....	2
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Considerações Gerais.....	3
2.2 Carboidratos.....	4
2.3 Variação na concentração de carboidratos.....	6
2.4 Fatores que afetam o enraizamento.....	7
2.4.1 Fatores ambientais.....	8
2.4.1.1 Luz.....	8
2.4.1.2 Temperatura.....	9
2.4.1.3 Umidade.....	10
2.4.2 Fatores ligados à planta.....	12
2.4.2.1 Idade da planta mãe.....	12
2.4.2.2 Posição de retirada das estacas.....	13

2.4.2.3 Época de coleta das estacas.....	14
2.4.2.4 Influência das espécies.....	15
2.4.2.5 Influência do estado nutricional.....	15
2.4.3 Outros fatores.....	16
2.4.4 Condições fisiológicas das estacas.....	17
2.4.4.1 Bases fisiológicas do enraizamento.....	17
2.4.5 Enraizamento de estacas em minijardim clonal.....	20
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 Descrição do local.....	22
3.2 Dados meteorológicos de Aracruz.....	22
3.3 Material Vegetal.....	25
3.3.1 Origem dos clones de eucalipto do minijardim clonal.....	25
3.3.2 Obtenção das microcepas.....	25
3.4 Fertirrigação no minijardim clonal.....	25
3.4.1 Irrigação.....	26
3.5 Substrato e Adubo.....	26
3.6 Estacas utilizadas.....	27
3.7 Condições testadas.....	27
3.8 Avaliações realizadas.....	28
3.8.1 Parâmetros biométricos.....	29
3.8.2 Parâmetros bioquímicos.....	29
3.8.2.1 Preparo dos padrões de açúcares.....	29



3.8.2.2	Preparo do material.....	30
3.8.2.3	Hidrólise Ácida.....	30
3.8.2.4	Condições do cromatógrafo.....	31
3.8.2.5	Cálculos no cromatógrafo.....	32
3.9	Análise dos dados.....	33
3.9.1	Teste de comparação de médias.....	33
3.9.2	Análise multivariada por componentes principais (PCA).....	33
4	RESULTADOS.....	34
4.1	Teste de comparação de médias.....	34
4.1.1	Efeito da sazonalidade.....	34
4.1.1.1	Variação de carboidratos.....	34
4.1.1.2	Sobrevivência.....	36
4.1.1.3	Produção Vegetal.....	36
4.1.1.3.1	Número de estacas/cepa.....	36
4.1.1.3.2	Biomassa seca.....	37
4.1.1.3.2.1	Parte aérea.....	37
4.1.1.3.2.2	Sistema radicular.....	38
4.1.2	Efeito da periodicidade de coleta.....	39
4.1.2.1	Variação de carboidratos.....	39
4.1.1.2	Sobrevivência.....	41
4.1.1.3	Produção Vegetal.....	41
4.1.2.3.1	Número de estacas/cepa.....	41

4.1.2.3.2 Biomassa seca.....	42
4.1.2.3.2.1 Parte aérea.....	42
4.1.2.3.2.2 Sistema radicular.....	43
4.2 Análise por componentes principais (PCA).....	44
5 DISCUSSÃO.....	47
5.1 Efeito da sazonalidade.....	48
5.2 Efeito da periodicidade de coleta.....	49
6 CONCLUSÕES.....	52
ANEXOS.....	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56

# **RELAÇÃO ENTRE SAZONALIDADE, DESRAMA E CARBOIDRATOS NO CRESCIMENTO DO EUCALIPTO NA PROPAGAÇÃO VEGETATIVA POR MINIESTAQUIA**

Autor: ANA GABRIELA MONTAN TORRES

Orientador: Prof. Dr. ANTONIO NATAL GONÇALVES

## **RESUMO**

A importância do *Eucalyptus* na conjuntura atual da silvicultura brasileira tem incitado significativos investimentos em pesquisa, o que tem proporcionado o desenvolvimento da propagação vegetativa. A propagação vegetativa de *Eucalyptus* spp permite a rápida multiplicação de genótipos selecionados, alcançar altos ganhos mesmo com características de baixa herdabilidade (como por exemplo: crescimento e conteúdo de celulose), aumento imediato de produtividade, além de apresentar sucesso com a aplicação de técnicas de estaquia. Existem evidências da existência da correlação entre a concentração de carboidratos, enraizamento de estacas e sobrevivência das mudas. Apesar de não possuírem função reguladora no enraizamento, os carboidratos são fontes de energia e de carbono para a síntese de substâncias essenciais para formação do corpo da planta. O manejo silvicultural e ambiental do minijardim podem alterar as concentrações de carboidratos na planta, portanto, o manejo possibilita alterações no teor endógeno dos açúcares, resultando em ganhos na sobrevivência das mudas jovens. A

pesquisa foi desenvolvida no viveiro da Aracruz Celulose S. A., que é a maior produtora de mudas de clones de eucalipto, localizada no município de Aracruz, Estado do Espírito Santo, Sudeste do Brasil. A empresa é também a maior produtora de celulose branqueada de fibra curta de eucalipto. Foram avaliados diversos parâmetros biométricos e bioquímicos de miniestacas de dois clones da empresa, em duas épocas sazonais (inverno e verão), coletados em três periodicidades de coleta. Os parâmetros biométricos avaliados foram: percentual médio de sobrevivência, biomassa seca e produtividade. Bioquimicamente, foram caracterizados e quantificados os teores de carboidratos através do método de hidrólise ácida e cromatografia (HPAE-PAD e GC-MS). Através do Teste t de comparação de médias a 95% de confiança, não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre as condições testadas. Entretanto, pela análise por componentes principais (PCA), comprovou-se que, biologicamente essas diferenças ocorrem e que existem uma época sazonal e periodicidade de coleta ótimas para cada clone, estando também relacionadas ao teor endógeno de carboidratos. Avaliando-se o feito da sazonalidade nos teores de açúcares para os dois clones, observou-se um aumento de 9.10% no verão em relação ao inverno. O ganho em açúcares propiciou um incremento de 138.00% e 143.00% em biomassa; em termos de sobrevivência ocorreram ganhos de 2.60% e 1.69% e, em termos de número de estacas produzidas/cepa os ganhos foram de 212.80% e 145.48%, para os clones A e B, respectivamente. De forma geral, para todos os parâmetros avaliados, a estação verão é a mais indicada para coleta de estacas, uma vez que se trata da estação mais produtiva. Em termos de periodicidade de coleta, para todos os parâmetros avaliados, a coleta a cada 9 dias mostrou-se a mais indicada.

**RELATIONSHIP BETWEEN SEASONALITY, HEDGING AND  
CARBOHYDRATES ON GROWTH OF EUCALYPTS IN THE  
VEGETATIVE PROPAGATION BY MINICUTTINGS**

Author: ANA GABRIELA MONTAN TORRES

Adviser: Prof. Dr. ANTONIO NATAL GONÇALVES

**SUMMARY**

The importance of the *Eucalyptus* in the current conjuncture of Brazilian forestry has stirred up significant investments in research, which has led to the development of improved methods of vegetative propagation. The clonal propagation of *Eucalyptus* spp. allows the fast multiplication of selected genotypes, allowing high gains even with characteristics of low heritability (i.e., growth and cellulose content), immediate increase in productivity, in addition to success with the application of cutting techniques. There are evidences on the existence of correlation between carbohydrate concentration, rooting of cuttings and steckling survival. Although carbohydrates do not have regulatory role in the rooting process, they are an important source of carbon and energy for the synthesis of essential substances in the formation of plant body. The silvicultural and environmental management of the miniclonal garden can alter carbohydrate concentrations in the plant, thus, this management makes it possible the alteration of the

endogenous content of sugars, resulting in increases of the survival of young plants. This research was carried out at the nursery of Aracruz Celulose S.A., which has the largest production of clonal eucalypt stecklings, located in Aracruz, Espírito Santo State, Brazil. The company is also the worldwide leader in the production of bleached eucalypt cellulose fiber. Two clones were evaluated in two seasons (winter and summer). Plants from stem cuttings were evaluated by several biometrical and biochemical parameters. The biometrical parameters were survival rate, dry biomass and productivity. The biochemical parameters were separation, characterization and quantification of several structural carbohydrates and their seasonal variation. It was not found significant statistical differences between the tested conditions through the t-Test for comparison of averages with 95% confidence. However, using another method of principal components analysis (PCA), it was demonstrated that there are biological differences among treatments, evidencing an optimum season and periodicity of hedging of cuttings for each clone, which could be related to the endogenous content of carbohydrates. Among the main results obtained, it was observed a 9.10% increase in carbohydrates during summer in relation to winter. The gain in sugar content in the summer was 138.00% and 143.00%, respectively, for clones A and B, compared to winter. The increment in survival rate of stecklings was increased 2.60% and 1.69%, respectively, for clone A and B; also, productivity of harvested cuttings from stock plants increased 212.80% and 145.48%, respectively, clone A and B. In general, the summer is the most indicated season for collection of cuttings, for all the evaluated parameters, because it is the most productive season. In terms of periodicity of hedging of cuttings, the collection at each 9 days was shown to be the more indicated for all the evaluated parameters.

## 1 INTRODUÇÃO

Buscando atender à demanda crescente de madeira, cujas características tecnológicas são exigidas para múltiplos usos, os plantios, principalmente com espécies dos gêneros *Eucalyptus* e *Pinus*, têm-se difundido e, por conseguinte, o número de mudas requeridas tem apresentado aumento significativo.

No contexto atual da silvicultura clonal brasileira, a importância do *Eucalyptus* tem incitado significativos investimentos em pesquisa, o que tem proporcionado o desenvolvimento da propagação vegetativa.

A propagação vegetativa de *Eucalyptus* spp é um método especialmente atrativo porque permite alcançar altos ganhos, mesmo com as características de baixa herdabilidade, tais como: crescimento, conteúdo de celulose e outras (Campinhos Júnior, 1987).

A reprodução de indivíduos, a partir de partes vegetativas das plantas matrizes, se baseia na capacidade que tem os órgãos aéreos e subterrâneos de produzir novos ramos e raízes (Hartmann & Kester, 1975). A propagação vegetativa tem como principal razão a reprodução exata de qualquer planta individual (Hartmann et al., 1981).

As vantagens da propagação vegetativa por enraizamento de estacas proporcionam ganhos consideráveis em programas de melhoramento genético além de levar às plantações, combinações favoráveis existentes em diferentes populações. Além disso, outra vantagem da propagação vegetativa é o aumento imediato da produtividade (Higashi et al., 2000b).

A importância da propagação vegetativa como ferramenta nos trabalhos de rápida multiplicação de genótipos selecionados, tem apresentado sucesso com a aplicação das técnicas de estaquia (Henrique, 2001).

Existem evidências da existência da correlação entre a concentração de carboidratos, enraizamento de estacas e sobrevivência das mudas. Os carboidratos não possuem função reguladora no enraizamento, entretanto, são fontes de energia e de carbono para síntese de outras substâncias essenciais para a formação do corpo da planta (Malavasi, 1994).

O conhecimento da concentração endógena dos carboidratos na planta matriz, da qual é coletada a estaca, é um valioso indicador das reservas de energia disponíveis para o enraizamento e sobrevivência das estacas no início do processo de produção de mudas (Malavasi, 1994; Silva, 1998).

### **1.1 Hipótese do trabalho e objetivo**

O manejo silvicultural e ambiental do minijardim podem alterar as concentrações de carboidratos na planta, portanto, o manejo adequado possibilitaria alterações no teor endógeno dos açúcares, resultando em ganhos na sobrevivência das mudas jovens.

Este trabalho tem como objetivo definir a melhor época de coleta das estacas do minijardim clonal visando otimizar a porcentagem de sobrevivência, taxa de crescimento relativo e produção de biomassa das mudas de dois clones da Aracruz Celulose S. A., assim como estudar alguns aspectos fisiológicos das plantas matrizes destes clones através das variações de carboidratos em duas épocas sazonais (inverno e verão).



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Considerações gerais

Devido às características de rápido crescimento, produtividade, ampla diversidade de espécies, grande capacidade de adaptação e por ter aplicação para diferentes finalidades (Mora & Garcia, 2000), o eucalipto tem sido extensivamente plantado no Brasil desde a década de 60 (Barros et al., 2000). Segundo dados de Penchel et al. (1995) e Mora & Garcia (2000) o Brasil possui uma área correspondente a mais de 3 milhões de ha de plantios florestais com eucalipto.

A madeira de eucalipto é reconhecida mundialmente como de excelente fibra para produção de papel de alta qualidade, além de ser economicamente viável devido ao seu rápido crescimento, permitindo maior produtividade (Mora & Garcia, 2000).

No Brasil, ganhos significativos na produtividade de madeira de eucalipto vêm sendo obtidos através do melhoramento genético que, possibilita a obtenção de respostas altamente significativas em menor espaço de tempo. Nos últimos anos, os programas de seleção têm sido implementados pelos avanços nas técnicas de propagação vegetativa, notadamente no enraizamento de estacas (Valle, 1978; Inoue et al., 1990; Higashi et al., 2000b).

A importância do *Eucalyptus* no cenário atual da silvicultura clonal brasileira tem estimulado consideráveis investimentos em pesquisa, o que tem proporcionado o desenvolvimento da propagação vegetativa (Xavier et al., 2001). A partir do momento em que a árvore passou a ser uma unidade de propagação clonal, desde 1986, a estaquia passou a ter importância na silvicultura brasileira (Higashi et al., 2000b).

No caso específico do *Eucalyptus* spp., a propagação vegetativa por enraizamento de estacas começou a ser desenvolvida na década de 1970 por pesquisadores australianos e franceses. Desde então, vem sendo muito difundida devido aos altos ganhos que promove em curto espaço de tempo, tanto em volume quanto em qualidade de madeira (Bertolucci & Penchel, 1993; Campinhos Junior, 1987).

Nos últimos anos, o aperfeiçoamento da técnica de estaquia, por intermédio da mini e microestaquia, proporcionou avanços consideráveis no processo de produção de mudas clonais de eucalipto, principalmente no que tange à maximização dos índices de enraizamento (Xavier et al., 2001).

A miniestaquia é uma das técnicas de propagação vegetativa do *Eucalyptus* e surgiu das limitações da microestaquia, cuja implementação é dependente da existência de laboratórios de cultura de tecidos para alcançar um grau de rejuvenescimento rápido e desejável para as plantas, encarecendo o custo de produção de mudas (Xavier & Wendling, 1998; Assis, 1997; Higashi et al. 2000a; Xavier et al. 2001). A miniestaquia caracteriza-se pela utilização de brotações de plantas propagadas pelo método de estaquia convencional como fonte de propágulos vegetativos na formação do minijardim clonal, não promovendo previamente seu rejuvenescimento *in vitro*, sendo as demais etapas semelhantes à técnica de micropropagação (Xavier & Wendling, 1998; Wendling et al., 2000a).

## 2.2 Carboidratos

Durante o crescimento e desenvolvimento das plantas, os açúcares participam de uma gama de processos vitais como germinação de sementes, desenvolvimento de plântulas, diferenciação radicular e foliar, transição foliar, amadurecimento de frutos, embriogênese, senescência, assim como respondem às variações de luz, estresse e patógenos (León & Sheen, 2003).

Aparentemente, a demanda por energia e carbono estrutural para suportar o enraizamento varia entre espécies e depende muito do tipo de estaca. Por exemplo,

estacas de folhosas podem requerer semanas ou meses para enraizar ao mesmo tempo em que podem produzir uma porção alta ou baixa de gemas e sofrer substancial aumento em massa. Em contrapartida, estacas de muitas herbáceas iniciam primórdios rapidamente, com pequeno acréscimo de massa (Haissig, 1983; Montain et al., 1983; Haissig, 1984).

Os carboidratos são freqüentemente considerados como a principal fonte de energia e de carbono estrutural durante o enraizamento, porque na maioria das estacas os carboidratos estão presentes em maiores concentrações do que outras fontes alternativas de energia, como os lipídios (Haissig, 1974). Segundo Malavasi (1994) há uma relação entre a concentração de carboidratos e o enraizamento de estacas, uma vez que estes açúcares exercem funções estruturais relevantes ao processo bioquímico, durante a expansão celular, na formação de novos tecidos e iniciação de raízes adventícias (Silva, 1998).

Para Hartmann et al. (1997) essa relação é controversa, pois, embora a quantidade de carboidrato e o enraizamento possam ser positivamente correlacionados, os carboidratos não possuem função reguladora no enraizamento. Os carboidratos em si não aumentam a resposta ao enraizamento, mas, são fontes de energia e de carbono para a síntese de outras substâncias essenciais para a formação de raízes. Isto posto, existe um limite mínimo abaixo do qual o crescimento e o desenvolvimento cessam, conseqüentemente, se as plantas doadoras apresentam baixas concentrações de carboidratos e se as estacas delas obtidas forem enraizadas sob condições restritas de fotossíntese líquida, haverá pouca energia disponível para suportar o enraizamento (Malavasi, 1994).

Evidências substanciais sugerem que estacas enraízam melhor sob condições que produzam as melhores concentrações internas de carboidratos não estruturais antes e durante o enraizamento (Strömquist & Eliasson, 1979; Reuveni & Raviv, 1980; Reuveni & Adato, 1974; Veierskov & Andersen, 1976; Champagnol, 1981).

Estacas com maiores concentrações de carboidratos normalmente apresentam melhor enraizamento em comparação às aquelas de menores quantidades (Hartmann & Kester, 1983). Entretanto a condição ótima da quantidade de carboidratos nas plantas e nas estacas ainda não está bem definida (Jackson, 1986).

Em parte, a concentração de carboidratos em estacas pode ser influenciada pelo tratamento com auxinas, que podem melhorar a mobilização dos carboidratos em folhas e ramos superiores e aumentar o transporte para a zona de enraizamento (Middleton et al., 1980; Veierskov & Andersen, 1982; Patrick & Wareing, 1976; Altman & Wareing, 1975; Andersen et al., 1975; Haissig, 1982).

### **2.3 Variação na concentração de carboidratos**

Variações sazonais na concentração e composição de carboidratos não estruturais foram pesquisadas em gemas, cascas, raízes, acículas (de diferentes idades e posições na árvore), de árvores de dois clones de *Pinus radiata* com 12 anos de idade. De todos os carboidratos analisados, o que apresentou o padrão mais consistente de acúmulo e redução foi o amido, entretanto, os períodos de picos de concentração diferiram de acordo com o tipo de tecido. Carboidratos solúveis também estavam presentes em elevadas concentrações durante todo ano, porém também apresentaram mudanças em suas composições em função da época sazonal e tipo de tecido (Cranswick et al., 1987).

Gholz & Cropper Jr (1991), estudando o padrão sazonal e a dinâmica de carboidratos em diferentes tecidos de árvores adultas de *Pinus elliottii* var. *elliottii* demonstraram que o amido apresentou marcante e similar sazonalidade em todos os tecidos, com máxima no final do inverno perto da época do novo crescimento na primavera. Açúcares mostraram pequena variação sazonal, exceto em raízes finas.

Schaberg et al. (2000), estudaram a dinâmica sazonal de estoque de carboidratos em mudas de *Picea rubens* Sarg. através da medição da concentração de amido e carboidratos de acículas velhas (com mais de um ano), acículas novas (com menos de um ano), ramos e raízes em dois sítios em Green Mountains, Vermont. Para todos os

tecidos, a concentração máxima de amido ocorreu no final da primavera, declinando durante o verão e alcançando um mínimo durante o inverno. A concentração de açúcares foi tão elevada quanto a de amido em todos os meses exceto maio e junho. Comparadas com ramos e raízes, as acículas geralmente continham elevadas concentrações de carboidratos além de mostrarem a maior variação sazonal.

Newell et al. (2002), examinaram a variação sazonal na concentração de carboidratos não estruturais em tecidos de galhos, troncos e raízes de quatro espécies tropicais predizendo que a quantidade máxima de carbono disponível ocorreria quando o dossel da floresta estivesse totalmente formado e a demanda máxima de carbono ocorreria quando folhas, flores e frutos fossem produzidos. A grande capacidade de produção fotossintética das folhas no começo da estação seca e o potencial de exportação de carboidratos de folhas senescentes pode explicar esse padrão. Em todas as espécies, a fenologia do aumento do carbono foi mais influente que a fenologia de reprodução sobre o padrão sazonal de carboidratos. A combinação da elevada concentração de carboidratos não estruturais e a grande biomassa de galhos, troncos e raízes indicaram que as espécies estudadas estão estocando e movendo grande quantidade de carboidratos.

#### **2.4 Fatores que afetam o enraizamento**

Alguns dos problemas que surgem em florestas clonais de híbridos de *Eucalyptus* (florestas que apresentam ganhos consideráveis em produtividade de celulose) estão no fato do potencial de enraizamento não poder ser prognosticado antes da colheita dos brotos, pelo fato de ser altamente afetado pelas mudanças sazonais e pelo manejo da plantas matrizes resultando em menor produção de estacas por propágulo (Penchel & Lyra, 1996).

A importância de se conhecer os fatores que afetam a formação de raízes e suas implicações está relacionada diretamente com o sucesso ou fracasso na produção de mudas por estaquia (Norberto, 1999).

A propagação de plantas por meio de estaquia depende de diversos fatores que influenciam no desenvolvimento e na diferenciação das raízes, tais como influência das espécies, presença de indutores e inibidores de enraizamento, tipo de estaca, juvenilidade dos brotos, presença de gemas e/ou folhas, efeito do período de coleta das estacas, efeito do período de dormência, ambiente de enraizamento e influência do estado nutricional (Kramer & Kozlowski, 1972, Hartmann & Kester, 1983; Higashi et al., 2000a).

Umidade, temperatura (tanto no substrato quanto na atmosfera) e luminosidade fornecidas às estacas durante o período de enraizamento também são de grande importância para as estacas (Hartmann & Kester, 1975; Valle & Caldeira, 1978), além de outros fatores como a composição química e física do substrato e alguns estresses ambientais, os quais também podem influenciar no enraizamento das estacas (Higashi et al., 2000a).

## **2.4.1 Fatores ambientais**

### **2.4.1.1 Luz**

A irradiância, o fotoperíodo e a qualidade da luz, cujas necessidades são variáveis segundo a espécie, devem ser adequados para a manutenção de uma taxa fotossintética que garanta suficiente suprimento de carboidratos, para a sobrevivência das estacas e a iniciação radicular sem comprometer o vigor vegetativo das estacas, as quais são variáveis com a espécie (Xavier, 2002).

A luminosidade tem participação importante durante o processo de enraizamento de estacas e o fotoperíodo, que proporciona maior acúmulo de carboidratos na planta-mãe, irá também exercer influência na iniciação e no crescimento de raízes (Hartmann & Kester, 1983).

A luz influencia em qualquer tipo de crescimento das plantas, pois é fonte de energia na realização da fotossíntese. Em estacas com folhas, os produtos da fotossíntese são essenciais para o enraizamento. A intensidade e duração da luz devem ser suficientes para que ocorra acúmulo de carboidratos, os quais irão favorecer o enraizamento (Hartmann & Kester, 1975; Valle, 1978).

Porém, em virtude principalmente das condições ambientais específicas de cada local, não existe na literatura clareza a respeito dos efeitos de diferentes intensidades luminosas sobre o enraizamento. Entretanto, nas condições brasileiras, a maioria dos estudos mostra que a diminuição nos níveis da luz natural induz maior enraizamento de estacas (Borges, 1978).

As estacas de algumas plantas enraízam mesmo na ausência de luz, porém, como regra geral, as estacas com folhas necessitam de luz para a assimilação do carbono e para aumentar as possibilidades de enraizamento (Komissarov, 1969). Entretanto, deve-se evitar que as estacas sejam expostas a incidência direta dos raios solares, a fim de evitar a queima dos tecidos mais tenros (Bowes, 1965; Ikemori, 1975a; Valle, 1978).

#### **2.4.1.2 Temperatura**

A temperatura tem importante função regulatória no metabolismo das plantas e afeta o enraizamento das estacas (Xavier, 2002). Conduzida de maneira inadequada oferece grandes limitações ao enraizamento (Valle, 1978).

Temperaturas altas aumentam a respiração dos tecidos, provocando um esgotamento das reservas nutricionais, enquanto que baixas temperaturas reduzem o processo de fotossíntese (Carrera Garcia, 1977) e diminuem o metabolismo das estacas, levando a um maior tempo para o enraizamento ou, até mesmo, não proporcionando condições adequadas para que ocorram indução, desenvolvimento e crescimento radicular (Xavier, 2002).

A divisão celular é favorecida com o aumento da temperatura e conseqüentemente auxilia na formação de raízes; porém, deve-se tomar especial cuidado com estacas herbáceas e semilenhosas, pois com o aumento da temperatura, tem-se uma elevação na taxa transpiratória, induzindo assim a dessecação do tecido (Fachinello, 1986). Temperaturas excessivamente altas, durante a fase de enraizamento, estimulam o desenvolvimento de gemas laterais antes do aparecimento de raízes, fato esse indesejável para a propagação. Ocorre também o aumento da transpiração e perda de água pelas folhas, provocando necrosamento (Hartmann & Kester, 1962; Hartmann & Kester, 1983; Fachinello, 1986).

A temperatura ótima para favorecer o enraizamento das estacas é bastante variável, sendo dependente das peculiaridades das plantas, do período de propagação, do grau de lignificação das estacas e das condições climáticas do local (Komissarov, 1969).

Hartmann et al. (1990) citam as temperaturas diurnas entre 21°C a 26°C e temperaturas noturnas entre 15°C e 21°C, como ideais para auxiliar o processo de enraizamento na maioria das espécies. Para condições tropicais e subtropicais, a temperatura ambiente deve situar-se na faixa de 25°C a 30°C, enquanto que a do substrato deve ficar entre 21°C e 26°C (Ikemori, 1975a; Bertoloti & Gonçalves, 1980).

Valle & Caldeira (1978) relatam que diversos pesquisadores aconselham o uso de aquecimento basal no enraizamento de estacas, quando a temperatura do substrato atinge valores inferiores à 21° C. Esses autores observaram que o aquecimento basal propiciou condições favoráveis ao desenvolvimento de gemas adventícias.

#### **2.4.1.3 Umidade**

A perda de água é uma das principais causas de morte de estacas antes da formação de raízes, pois para que haja divisão celular, é necessário que as células do tecido da estaca estejam túrgidas. Portanto, o potencial de perda de água em uma estaca é muito grande, seja através das folhas ou das brotações em desenvolvimento,



considerando que as raízes ainda não estão formadas. Esse quadro se agrava quando se trabalha com espécies que exigem longo tempo para formar raízes e que são utilizadas estacas com folhas e/ou de consistência herbácea (Norberto, 1999).

A umidade é um dos fatores mais relevantes para o processo de enraizamento de estacas, pois com excesso ou insuficiência de umidade ocorrerá a morte das estacas. A presença de folhas nas estacas é um forte estímulo para o início do enraizamento. Entretanto, deve-se manter a umidade do ar elevada favorecendo as estacas e reduzindo a transpiração pelas folhas (que devem ser aspergidas com frequência). Quando ocorre murchamento pronunciado das estacas, devido a redução de umidade, danos irreversíveis podem ocorrer e mesmo sob condições normais de umidade, as estacas não voltam a enraizar (Hartmann & Kester, 1975).

Para se manter a umidade relativa alta, são realizadas aspersões de água, em forma de névoa fina, repetidas vezes ao dia, contribuindo também para reduzir a temperatura do ar e das folhas, resultando em baixa transpiração (Hartmann e Kester, 1983). Um dos problemas encontrados na maior parte dos sistemas de controle de irrigação é justamente a flutuação da umidade relativa dentro dos módulos, pois a irrigação é programada para intervalos fixos, não acompanhando a evapotranspiração das folhas das estacas, desconsiderando as épocas sazonais (Bertoloti & Gonçalves, 1980).

A umidade do ar ao redor das estacas tem influência no *status* hídrico; a maioria dos sistemas de propagação tenta manter um alto grau de saturação na atmosfera através do uso de coberturas de polietileno ou através do fornecimento de água em minúsculas gotas, ou ainda, através da combinação de ambos os métodos (Malavasi, 1994). O uso da nebulização conserva a umidade elevada e também reduz a temperatura das folhas permitindo o emprego de maior iluminação a fim de que a fotossíntese não seja reduzida (Hartmann e Kester, 1975). O uso de nebulização exige um substrato de livre drenagem de forma a evitar o encharcamento do meio o que levaria ao apodrecimento das estacas (Valle & Caldeira, 1978).

Ikemori (1975b) estudando o enraizamento de estacas de eucalipto em condição de casa-de-vegetação relata que na época mais fria do ano (abril a setembro) o uso de nebulização no sistema que consistia de 1 minuto de nebulização e 4 minutos de intervalo entre nebulizações, proporcionou resultados bastante satisfatórios. As estacas permaneceram verdes, não perderam folhas e o tempo de enraizamento foi diminuído.

#### **2.4.2 Fatores ligados à planta**

O estado fisiológico da planta assume importância fundamental no processo de enraizamento (Valle & Caldeira, 1978). É fato conhecido há muito tempo que a capacidade de enraizar em muitas espécies diminui à medida que a planta lenhosa passa de um estado juvenil para um estado adulto. O rejuvenescimento das estacas e a conseqüente recuperação da capacidade de enraizamento são praticados rotineiramente no processo de enraizamento de eucalipto (Acesita/Bioplanta, 1987).

##### **2.4.2.1 Idade da planta mãe**

O rejuvenescimento de clones torna-se importante pelo fato do processo de maturação ser um fenômeno que geralmente afeta espécies lenhosas, de acordo com seu desenvolvimento ontogenético, em que uma das mais importantes conseqüências para a clonagem é a redução ou até mesmo a perda da capacidade de enraizamento que se verifica em plantas adultas (Xavier et al., 2001).

A propagação vegetativa de árvores adultas requer material fisiologicamente juvenil (gemas epicórmicas basais) ou com rejuvenescimento da habilidade de formar raízes em material adulto. As árvores adultas necessitam de técnicas especiais de reverter a juvenildade para resgatar condições favoráveis para enraizamento e crescimento. O rejuvenescimento para o estágio juvenil naturalmente ocorre durante a reprodução sexuada e na apomixia. Durante a propagação vegetativa o rejuvenescimento

também pode ocorrer e tem sido alcançado de diversas maneiras: (1) poda drástica; (2) aplicação de citocininas ou herbicida; (3) propagação seriada via enxertia; (4) propagação seriada via estaquia e (5) micropropagação (Higashi et al., 2000a).

De qualquer forma, pode-se dizer que, quanto mais juvenil for o material vegetativo, maior será o sucesso do enraizamento, quer expresso pela rapidez de formação, quer pela capacidade de crescimento da nova planta. Pode-se dizer também que isso se deve ao fato de, na utilização de material vegetativo juvenil, a morfogênese expressar-se mais facilmente nos tecidos (Xavier & Comércio, 1996).

#### **2.4.2.2 Posição de retirada das estacas**

Um fator que influi na facilidade, proporção e velocidade de enraizamento das estacas é a posição que estas ocupam na árvore e o ramo de onde foram retiradas. Os ramos laterais enraízam mais rapidamente que os ramos apicais, em virtude de contarem com uma maior disponibilidade de carboidratos; fato similar ocorre com a porção basal de ramos em relação à porção terminal (Silva, 1998).

Bertoloti et al. (1981) verificaram em eucalipto que estacas oriundas de material mais lignificado apresentaram melhores resultados tanto na brotação das gemas, como no enraizamento das estacas. Já as estacas coletadas no ponteiro das mudas secavam alguns dias após serem colocadas para enraizar, talvez por apresentarem poucas reservas em seus órgãos (folhas e caule).

Penchel et al. (1995) destacaram como principais resultados o aumento médio da porcentagem de enraizamento de 11.6% e 7.6%, em material preparado a partir de ramos plagiotrópicos em relação aos ortotrópicos e na capacidade de enraizamento de miniestacas em relação a estacas padrão, respectivamente. Tanto a taxa de enraizamento quanto o número de raízes por estaca tende a aumentar em miniestacas obtidas da parte basal ou mediana da brotação para os diversos clones estudados.

### **2.4.2.3 Época de coleta das estacas**

Em linhas gerais, as estacas podem ser coletadas em qualquer época do ano, sendo o enraizamento, porém, determinado pelas condições fisiológicas da planta matriz e pelas condições climáticas durante a retirada do material a ser utilizado (Komissarov, 1969).

Para Hartmann & Kester (1975) a época do ano em que são coletadas as estacas exerce em alguns casos grande influência sobre o enraizamento das mesmas e pode ser o principal ponto de sucesso desta atividade. Para cada planta específica há necessidade de observação da melhor época para se proceder a estaquia, pois as condições fisiológicas dos tecidos vegetais são influenciadas pela época do ano.

Ono & Rodrigues (1996) citando diversos autores, relatam a influência da estação do ano sobre o enraizamento de estacas, fato estudado em vários cultivos. Essa variação na capacidade de enraizamento é atribuída às fases de crescimento da planta e ao estado bioquímico das estacas. As variações sazonais modificam a atividade cambial, o estado fisio/morfológico da planta-mãe, que altera os níveis hormonais endógenos e nutricionais, que favorecem o enraizamento, influenciando assim a resposta de enraizamento.

Sob o ponto de vista fisiológico, as estacas devem ser coletadas no período de repouso vegetativo, o qual é variável de acordo com a planta. A realização da coleta das estacas no período de repouso vegetativo é importante, em função do equilíbrio carboidratos/nitrogênio estabelecido nesta ocasião devido ao efeito que exerce na iniciação e no desenvolvimento das raízes (Silva, 1998).

Valle & Caldeira (1978) relatam que a época mais favorável ao enraizamento de estacas de eucalipto se inicia na primavera, época em que o material a ser estaquiado encontrará melhores condições nutricionais, portanto estarão mais aptas ao enraizamento.

#### **2.4.2.4 Influência das espécies**

Segundo Valle (1978) a capacidade de enraizamento varia entre espécies e entre árvores. Sendo assim, estacas de certas espécies enraízam mais facilmente do que as de outras. Também existem consideráveis discrepâncias quanto à capacidade de enraizamento entre árvores da mesma espécie (Kramer & Kozlowski, 1972).

Para Xavier (2002) a habilidade de enraizamento das espécies florestais pode ser assim classificada: (1) espécies de fácil propagação, (2) espécies com respostas crescentes ao enraizamento quando são proporcionadas condições adequadas de controle ambiental e manejo da fonte de propágulo vegetativo (estacas) e (3) aquelas espécies com resposta pequena ou nenhuma aos estímulos para enraizamento.

Cooper & Graça (1987) encontraram alta variabilidade na capacidade de enraizamento de estacas de *E. dunnii*, não somente entre procedências, mas também entre indivíduos de uma mesma procedência. Assim, para a maximização do potencial de enraizamento, os autores sugerem a seleção de matrizes com alta capacidade de enraizamento.

Malavasi (1994) ressalta que dentro da espécie, a importância do genótipo é significativa na habilidade das estacas em formar raízes, visto a existência de variações de até 74% de clone para clone. Rosse et al. (1996) encontraram diferenças significativas entre clones para o número de estacas produzidas e para a porcentagem de enraizamento, indicando haver diferenças genéticas entre eles.

#### **2.4.2.5 Influência do estado nutricional**

O estado nutricional, tanto da planta-matriz doadora de estacas, como da estaca durante o processo de enraizamento, tem se mostrado um fator importante no enraizamento (Acesita/Biplanta, 1987). A nutrição mineral pode influenciar o enraizamento das estacas de duas formas distintas, ou seja, decorrente do vigor

vegetativo da planta-matriz da qual se coletam as brotações e do próprio *status* nutricional do material coletado (Xavier, 2002).

Apesar da reconhecida significância da relação entre a nutrição mineral e o enraizamento, a importância de vários nutrientes neste processo não é claramente conhecida. Em geral, qualquer nutriente envolvido nos diversos processos metabólicos, associados à diferenciação e formação do meristema radicular, é essencial para a iniciação radicular. O estado nutricional do vegetal pode também atuar em sinergia com vários fatores que induzem o enraizamento e afetam o crescimento e vigor pós-propagação (Malavasi, 1994).

Malavasi (1994) cita que dentro de certos limites, o estado nutricional da estaca possui maior influência no crescimento e desenvolvimento radicular do que na iniciação radicular, sugerindo que a influência da nutrição mineral na iniciação radicular é altamente dependente dos níveis iniciais dentro daquela porção da estaca onde as raízes serão formadas.

### **2.4.3 Outros fatores**

O substrato pode exercer influência no processo de enraizamento de estacas. De modo geral, seu papel é sustentar as estacas durante o período de enraizamento oferecendo condições de umidade e aeração que propiciem o enraizamento e a formação de um bom sistema radicular de maneira a assegurar um bom desenvolvimento da muda quando plantada no campo (Valle, 1978; Xavier, 2002).

O substrato usado em estaquia é função do sistema de irrigação a ser empregado, deve ser constituído de material que propicie uma drenagem satisfatória de forma a manter em equilíbrio as percentagens entre ar e água, evitando o apodrecimento da base das estacas (Ikemori, 1975b; Valle & Caldeira, 1978).

Zani Filho & Balloni (1988) testaram o efeito de diferentes substratos no enraizamento de estacas de eucalipto. O estudo envolveu diversas misturas de composto orgânico obtido através da decomposição de cascas de eucalipto com “cinza” de caldeira de biomassa, e um produto comercial constituído de vermiculita e casca de pinus.

#### **2.4.4 Condições fisiológicas das estacas**

O estado fisiológico da planta matriz é um conjunto de atributos internos da mesma que vão estar presentes ou não no metabolismo da planta por ocasião da coleta de estacas (Norberto, 1999). A formação de raízes nas estacas depende das condições internas da planta-matriz e do meio em que são colocadas. A capacidade que tem uma estaca para formar raízes é devida à ação de substâncias naturais reguladoras do crescimento presentes nas células, nas folhas e gemas. Há vários grupos destas substâncias, dentre eles as auxinas, as citocininas e as giberilinas (Bueno, 1995). Destes, as auxinas são de maior interesse com respeito à formação de raízes nas estacas (Hartmann & Kester, 1968).

##### **2.4.4.1 Bases fisiológicas do enraizamento**

As estacas de algumas espécies lançam raízes com facilidade, embora seu enraizamento seja melhorado mediante tratamento com substâncias que estimulam o crescimento radicular (Kramer & Kozlowski, 1972).

O uso dessas substâncias reguladoras de crescimento de natureza química depende da capacidade de formação de raízes adventícias de cada espécie, clone, tipo de material, época do ano, juvenilidade de propágulos, entre outros fatores, o que irá influir diretamente na qualidade do sistema radicular formado e afetará positivamente o desenvolvimento posterior da planta propagada via estaquia (Hartmann et al. 1990; Fachinello, 1986; Wendling et al., 2000a).

A auxina endógena encontrada nas plantas é o ácido indolacético (AIA) em níveis que variam conforme a velocidade das reações de síntese, destruição e inativação,

e que, por sua vez, é afetada por alguns fatores como idade fisiológica do órgão e da planta, condições ambientais e parte da planta que foi utilizada (Norberto, 1999).

A aplicação de reguladores de crescimento para enraizamento torna-se necessária quando o balanço hormonal citocinina/auxina encontra-se muito alto. Portanto, é necessário que haja um balanço adequado, especialmente auxinas, giberilinas e citocininas, ou seja, um equilíbrio entre promotores e inibidores do processo de iniciação radicular. A maneira mais comum de promover esse equilíbrio é através da aplicação exógena de reguladores de crescimento sintéticos, como AIA (ácido indolacético), AIB (ácido indol-butírico), ou ANA (ácido naftalenoacético), que podem elevar o teor de auxina no tecido e proporcionar maior porcentagem, velocidade, qualidade e uniformidade de enraizamento (Norberto, 1999; Wendling et al. 2000a).

Dentre os promotores de enraizamento, não existem dúvidas sobre a importância das auxinas, em especial o AIB (ácido indol-butírico), que em aplicações externas certamente deslocam o balanço hormonal no sentido dos promotores auxiliando significativamente o enraizamento (Norberto, 1999).

Em *Eucalyptus* spp. também se faz uso de reguladores de crescimento no processo de enraizamento das estacas. Bertoloti et al. (1981) obtiveram aumento de 37.5% no enraizamento de estacas de *E. terenticornis* com a utilização de 2.000 ppm de AIB.

Silva (1998) induziu o enraizamento de estacas de *E. grandis*, via sistema hidropônico, associado a níveis de auxina, em condições de casa-de-vegetação. Foram utilizadas cinco concentrações de AIB (0; 3.0; 6.0; 9.0 e 12.0 ppm), adicionadas à solução nutritiva e associadas a cinco clones. A coleta dos dados foi realizada aos 30 dias, após as estacas serem colocadas em meio para enraizamento. O autor obteve um percentual de 85.28% de calejamento dos clones e 0,53% de enraizamento. Os altos índices de calejamento observados, com baixos índices de enraizamento, podem estar relacionados aos efeitos de baixas temperaturas ocorridas no período, principalmente à noite, afetando a formação dos primórdios radiculares. O acréscimo de 2% de sacarose à



solução nutritiva, ocasionou apodrecimento generalizado da base das estacas, após a primeira semana da aplicação, decorrentes da ação de fungos e bactérias. A concentração que promoveu melhor resultado foi 6.42 ppm, com 18.64% de enraizamento, apesar dos efeitos negativos provocados pelas baixas temperaturas registradas no período.

Zuffellato-Ribas & Rodrigues (2001) estudaram o efeito de diferentes concentrações de AIB (0; 2.000; 4.000; 6.000 e 8.000 mg.L<sup>-1</sup>) e diferentes estações do ano no enraizamento de estacas herbáceas de *E. grandis*, coletadas a partir de plantas matrizes de 3 anos de idade. Os autores observaram resposta mais favorável ao enraizamento dessas estacas quando a coleta do material vegetal foi realizada no inverno, com 64% de enraizamento, utilizando 6.000 e 8.000 mg L<sup>-1</sup> AIB, seguida da coleta realizada na primavera, com 42% com o tratamento de 8.000 mg L<sup>-1</sup> AIB. Na coleta do verão, obtiveram somente 6% de enraizamento com 4.000 mg L<sup>-1</sup> AIB. De acordo com os autores o alto índice de enraizamento encontrado no inverno pode ser explicado pelo fato de que o inverno de 1995, segundo ano do experimento, não foi tão rigoroso como de costume. Assim, elevações da temperatura ambiental na época do inverno, conhecidas como veranicos, podem ter influenciado positivamente a resposta de enraizamento.

Quanto mais juvenil for o material vegetativo e quanto menor a lignificação dos propágulos em relação aos obtidos via microestaquia, maior será o sucesso do enraizamento, quer expresso em porcentagem, quer expresso pela rapidez de formação e, ainda pela qualidade das próprias raízes, bem como pela capacidade de crescimento da nova planta. Com isso, a aplicação de estimuladores de enraizamento em microestacas só se justifica quando o material vegetativo não apresenta facilidade em enraizar. Entretanto, aplicações de reguladores de crescimento poderão contribuir positivamente no processo de miniestaquia por meio do aumento do vigor, da uniformidade e da qualidade do sistema radicular, fatores importantes inerentes à qualidade das mudas para o plantio comercial (Xavier & Comércio, 1996; Wendling et al. 2000a).

A condição nutricional da planta matriz pode afetar seriamente o processo de formação de raízes principalmente no que se refere ao teor de carboidratos (Norberto, 1999). A condição fisiológica da planta, aliada a uma nutrição equilibrada, geralmente resulta num aumento da porcentagem de estacas enraizadas. A presença de carboidratos, substâncias nitrogenadas, aminoácidos, auxinas, compostos fenólicos e substâncias promotoras do enraizamento ainda não identificadas contribui para a iniciação de raízes adventícias, quando combinados em concentrações e proporções adequadas (Ono & Rodrigues, 1996).

#### **2.4.5 Enraizamento de estacas em minijardim clonal**

Apesar da importância do minijardim clonal na silvicultura brasileira, pouco se conhece sobre essa técnica, tanto em nível experimental como comercial, por ser sua utilização comercial muito recente, justificando assim a escassez de informações na literatura.

O estudo de Wendling et al. (2000b) procurou avaliar a técnica de miniestaquia como método de propagação vegetativa para cinco clones híbridos de *Eucalyptus* spp., quanto à produção e sobrevivência das minicepas em sucessivas coletas e à sobrevivência, ao enraizamento e ao vigor vegetativo (altura e diâmetro do coleto) das miniestacas provenientes das coletas sucessivas do minijardim clonal. O experimento foi desenvolvido no viveiro de Pesquisas Florestais da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. As minicepas do minijardim clonal, após as cinco coletas, apresentaram sobrevivência média entre 99.2% e 100% e produção média entre 1.5 e 2.3 miniestacas por minicepa, para os clones avaliados. Variações expressivas entre os clones foram observadas quanto às características estudadas. A sobrevivência média das miniestacas obtidas na saída da casa de vegetação, para as cinco coletas, variou de 17.4 a 77.6% e o enraizamento médio na saída da casa de sombra, de 17.2 a 67.2%. Os resultados deste trabalho indicaram a ocorrência de grandes variações entre os clones e as coletas

estudadas, quanto às características avaliadas, bem como a sustentabilidade de produção de miniestacas do jardim clonal.

Wendling et al. (2000a) desenvolveram um estudo com a utilização de AIB na propagação de clones de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia. Foram utilizados cinco clones híbridos de *Eucalyptus* spp., selecionados na região norte do Estado de Minas Gerais, oriundos de brotações de mudas produzidas segundo os procedimentos da técnica de miniestaquia. As doses de AIB foram de 0; 1.000; 3.000 e 6.000 ppm, dissolvidas em hidróxido de sódio (NaOH), tendo o volume completado com água destilada. Avaliou-se a sobrevivência das miniestacas na saída da casa de vegetação, a sobrevivência das miniestacas na saída da casa de sombra e a sobrevivência, altura e diâmetro do coleto das plantas aos 60 dias de idade. Tomando por base a aplicação de 1.000 ppm de AIB, foram obtidos em média 21.8; 18.5; e 13.4 pontos percentuais superiores para a sobrevivência na saída da casa de vegetação, o enraizamento na saída da casa de sombra e a sobrevivência das mudas aos 60 dias de idade, respectivamente, em detrimento da não-aplicação.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Descrição do local**

O presente estudo foi desenvolvido no Viveiro de produção de mudas e no Centro de Pesquisa e Tecnologia da Aracruz Celulose S.A., localizada no município de Aracruz, Espírito Santo, onde foram obtidas plantas do minijardim clonal e realizadas as análises biométricas e bioquímicas.

#### **3.2 Dados meteorológicos de Aracruz**

A Aracruz Celulose S.A. encontra-se no município de Aracruz, região litorânea do Estado do Espírito Santo, situada a aproximadamente 19°48' de latitude sul, 40°17' de longitude oeste de Greenwich, altitude variando de 5 a 50 m e clima Aw (clima tropical úmido, com estação chuvosa no verão e seca no inverno), segundo a classificação de Köppen (Figura 1). Na região, devido à proximidade do oceano, as temperaturas são elevadas, mas suas oscilações são pequenas e o inverno apresenta estiagem bem menos pronunciada que em outros locais. A precipitação média anual (Figura 2) é de 1364mm (primavera e verão representam 65% a 75% da precipitação total e em apenas um ou dois meses, as precipitações mensais são inferiores a 60 mm) com temperatura média anual de 23.60°C e umidade relativa do ar de 80% (Figuras 3 e 4). Os solos predominantes são classificados como sendo do tipo podzólico amarelo (EMBRAPA/CNPS - Boletim de Pesquisa 1, 2000).

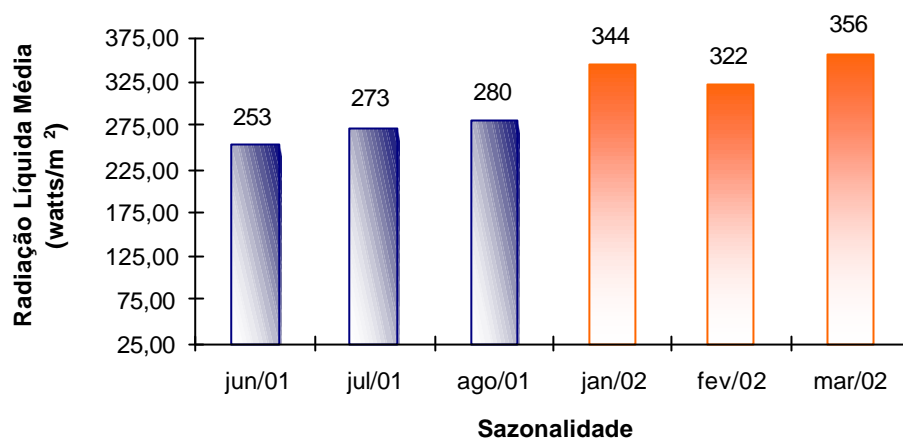


Figura 1 - Dados de radiação líquida média mensal de Aracruz para as épocas sazonais (inverno e verão) estudadas

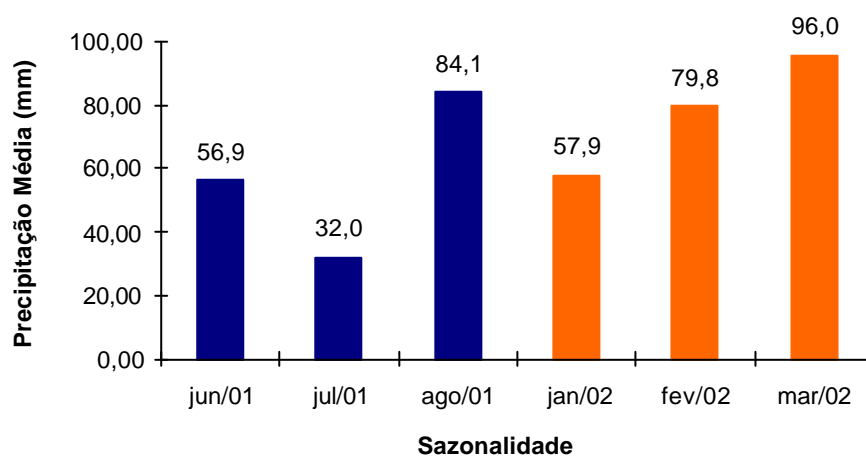


Figura 2 - Dados de precipitação média mensal de Aracruz para as épocas sazonais (inverno e verão) estudadas

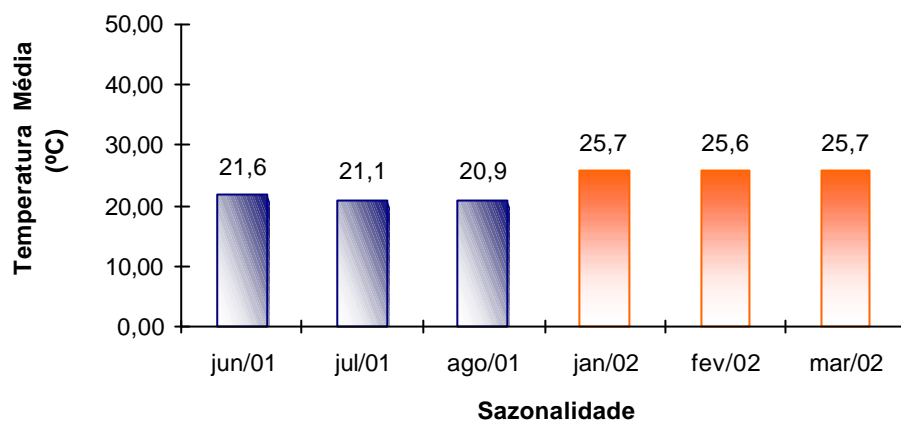


Figura 3 - Dados de temperatura média mensal de Aracruz para as épocas sazonais (inverno e verão) estudados

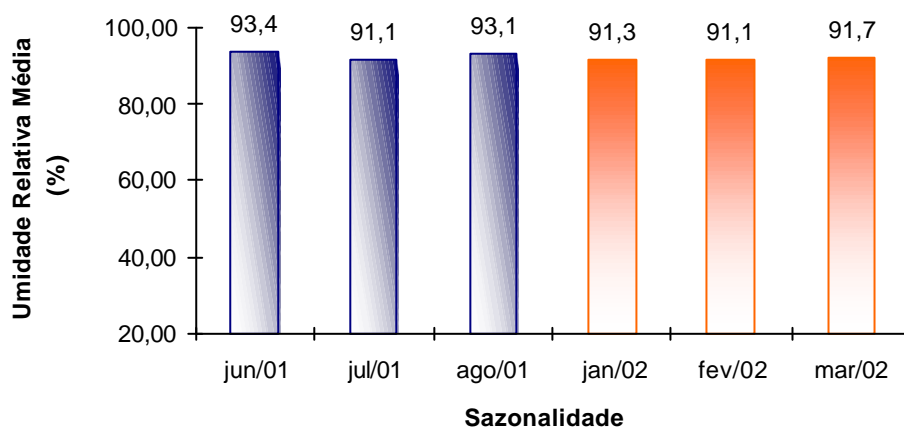


Figura 4 - Dados de umidade relativa média de Aracruz para as épocas sazonais (inverno e verão) estudadas

Os dados meteorológicos foram obtidos a partir da Estação Meteorológica "Viveiro" da Aracruz Celulose S.A.

### **3.3 Material vegetal**

#### **3.3.1 Origem dos clones de eucalipto do minijardim clonal**

Os clones A e B são híbridos naturais, coletados em testes de procedência do Horto Florestal Navarro de Andrade, no município de Rio Claro (SP). De ambos os clones somente o lado materno é conhecido, sendo o clone A um híbrido de *Eucalyptus saligna* e o clone B um híbrido de *Eucalyptus grandis*.

#### **3.3.2 Obtenção das microcepas**

A partir de mudas (não rustificadas, com aproximadamente 50 dias de idade) dos clones A e B foram estabelecidos os minijardins clonais.

As mudas plantadas receberam podas de formação, de modo a favorecer o desenvolvimento de brotos axilares (crescimento lateral). Em função de diferenças de desenvolvimento e de crescimento de cada material genético, após 30 dias iniciaram-se as coletas de brotos para o clone A e após 60 dias para o clone B sendo que, as duas primeiras coletas (de ambos) foram descartadas.

### **3.4 Fertirrigação no minijardim clonal**

O minijardim clonal durante o inverno foi fertirrigado (Tabela 1) 5 vezes ao dia, durante 5 minutos à cada acionamento. Durante o verão, a fertirrigação variou tanto em

número de vezes (5 a 10 vezes) quanto em tempo de acionamento (5 a 10 minutos), em função das temperaturas diárias.

Tabela 1. Composição da solução de fertirrigação

ADUBO	kg/1000 litros
Nitrato de Potássio	3.50
Cloreto de Potássio	6.00
Nitrato de Cálcio	23.00
MAP	2.40
Sulfato de Magnésio	9.10
Tenso Ferro	1.30
<u>Solução de Micronutrientes*</u>	<u>20.00 litros</u>

\*(g/20litros): 70.00g de Ácido Bórico; 12.00g de Sulfato de Zinco; 20.00g de Sulfato de Manganês; 2.50g de Sulfato de Cobre; 1.00g de Molibdato de Sódio.

### 3.4.1 Irrigação

O consumo diário de água de irrigação na fase de enraizamento para a miniestaquia correspondeu a uma lâmina de água de 6 mm (com aspersor Fogger® 21 litros/hora) e, na fase de crescimento das mudas correspondeu a uma lâmina de água de 12 mm (aspersor Big Swivel® 270 litros/hora).

### 3.5 Substrato e adubo

O substrato e o adubo aplicados, descritos a seguir, foram o de uso operacional da empresa, sendo utilizados no processo de enraizamento das estacas. O substrato contém mistura 50% (v/v) de composto de casca de eucalipto, 25% (v/v) de vermiculita



e 25% (v/v) de casca de arroz carbonizada. Os adubos incorporados ao substrato na proporção 2.00 kg/m<sup>3</sup> no inverno e 1.50 kg/m<sup>3</sup> no verão foram o Osmocote® (19-06-10) e o Superfosfato Simples (contendo Fósforo na forma de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, Cálcio e Enxofre).

### 3.6 Estacas utilizadas

Foram utilizadas mini estacas de híbridos de *Eucalyptus saligna* (clone A) e de híbridos de *Eucalyptus grandis* (clone B). As estacas foram colhidas quando as brotações atingiram o tamanho de 4-6 cm.

A coleta das estacas foi realizada durante o período matinal, sendo mantidas em recipientes adequados até o local de tratamento e plantio. A cada coleta, 420 estacas por tratamento foram conduzidas em tubetes para as avaliações biométricas e 45 estacas por tratamento foram embrulhadas em papel alumínio e imediatamente conservadas em nitrogênio líquido (em refrigerador a uma temperatura de -70°C) até a realização das análises bioquímicas.

As estacas foram devidamente preparadas, sendo cortadas em bisel, tanto na parte superior como na inferior, submetidas a tratamento com fitorregulador IBA (ácido indol-butírico) na forma líquida (concentração 150 ppm), durante 15 segundos, plantadas em tubetes contendo substrato e levadas para a casa de vegetação onde permaneceram por um período de 25 dias.

### 3.7 Condições testadas

Foram avaliados 2 clones (A e B), em 3 períodos de coletas (5, 7 e 9 dias, para cada um deles), em duas épocas sazonais (verão e inverno). A época de inverno compreende os meses de junho a agosto de 2001 e o verão aos meses de janeiro a março de 2002, correspondendo a 12 condições testadas (Tabela 2).

Tabela 2. Descrição das condições testadas

CLONES	ÉPOCA SAZONAL	PERIODICIDADE DE COLETA (DIAS)
A	inverno	5,7,9
A	verão	5,7,9
B	inverno	5,7,9
B	verão	5,7,9

As estacas foram coletadas das áreas centrais e extremidades dos canaletões de forma a homogeneizar as condições de temperatura e luminosidade, em duas épocas sazonais, inverno e verão. Nos tratamentos onde os brotos foram coletados a cada 5 dias foram realizadas 5 coletas, nos tratamentos com coletas a cada 7 e 9 dias, 4 coletas.

Em cada período de coleta as estacas (140 estacas por condição testada) foram submetidas ao enraizamento e avaliadas quanto porcentagem de sobrevivência aos 35 dias e produção de biomassa seca aos 55 dias.

### 3.8 Avaliações realizadas

As avaliações bioquímicas foram realizadas no início do experimento, no dia de cada coleta e os parâmetros biométricos aos 35 e 55 dias, na saída da casa de aclimatação.

### **3.8.1 Parâmetros biométricos**

Os seguintes parâmetros biométricos foram avaliados:

sobrevivência de mudas: porcentual médio de cada condição testada, após 35 dias do plantio, na saída da casa-de-aclimatação;

biomassa: avaliação da biomassa das partes aérea e radicular, separadamente, de cada condição testada, após 55 dias.

### **3.8.2 Parâmetros bioquímicos**

Foram extraídos os teores de carboidratos (açúcares solubilizados a partir de materiais estruturais) através do Método de Hidrólise Ácida e a Cromatografia através dos métodos HPAE-PAD - (High Performance Ânion Exchange - Pulsed Amperometric Detection) para identificação e para quantificação. Estas análises de carboidratos, em estacas de híbridos de Eucalyptus foram realizadas no Laboratório do Centro de Pesquisa e Tecnologia da Aracruz Celulose S.A.

#### **3.8.2.1 Preparo dos padrões de açúcares**

Para preparar as soluções concentradas dos padrões pesou-se cerca de 10 mg de cada padrão em balão de 100 ml completados com água ultra-pura, de modo a fazer com que cada padrão ficasse com concentração em torno de 100 ppm.

Os padrões foram então diluídos para determinação da curva de calibração utilizando-se as seguintes concentrações: 0.2, 1.0, 4.0 e 8.0 ppm, conforme Anexos 1 e 2.

### 3.8.2.2 Preparo do material

Quando do período de coleta, as estacas foram previamente lavadas em água destilada, embrulhadas em papel alumínio e imediatamente conservadas em nitrogênio líquido de modo a serem liofilizadas no Freeze Dry System (Labconco) por um período de 24 horas. Posteriormente à liofilização, as amostras foram trituradas no moinho Cyclone Sample Mill, com peneira de 0.50 mm.

Pesou-se então, cerca de 200.00 mg de cada amostra moída para extração de óleos, ácidos graxos, extrativos, citosterol, etc. Para tanto, utilizou-se balão de 100.00ml de capacidade e uma mistura de etanol/touleno. A consistência ou peso seco das amostras foi obtido a partir da pesagem de 200.00 mg de cada amostra.

### 3.8.2.3 Hidrólise ácida

Para hidrólise ácida dos açúcares, foram adicionados ao balão de 100.00 ml, 2.00 ml de Ácido Sulfúrico 24N, gota a gota, com o frasco em banho de gelo de modo a evitar o superaquecimento da amostra. Em seguida, o balão foi colocado em banho-maria durante 1 hora a 30°C.

Posteriormente ao banho-maria as amostras foram diluídas com 56.00 ml de água e depois de tapados, os frascos foram levados à autoclave a 120°C de temperatura com 1.00 kg de pressão/unidade de área durante 1 hora.

As amostras foram transferidas para beakers e adicionou-se a cada uma delas, aproximadamente 12 gotas de azul de Bromofenol (indicador). De modo a homogeneizar a mistura utilizou-se agitador magnético (Corning Stirrer/Hot Plate) e durante a agitação adicionou-se solução de Hidróxido de Bário saturada (para neutralizar o Ácido Sulfúrico) até a mudança de cor de amarelo para azul violeta. Mediu-se então o

pH da solução que deveria estar em torno de 5.00, não podendo ser maior que 5.50 para não causar a reversão dos açúcares.

Durante aproximadamente 10 minutos as soluções foram centrifugadas, filtradas em kit Millipore® com filtro 0.45 µm, sendo em seguida transferidas para balões de 250.00 ml tendo seus volumes completados com água ultra-pura.

#### **3.8.2.4 Condições do cromatógrafo**

A análise em cromatografia foi realizada em cromatógrafo Dionex® DX.600, utilizando coluna PA1 (4 X 250 mm), com pré-coluna (Carbo Pac PA1) e com reação pós-coluna, utilizando-se 300 mM de NaOH .

O fluxo da fase móvel foi de 1.00 ml/min e o fluxo pós-coluna foi ajustado de modo a fazer com que o pH do detector fosse superior a 12. A pressão do sistema coluna foi de 1100 Psi e a pressão pós-coluna foi igual a 30 Psi

Para as épocas sazonais estudadas, inverno e verão, as condições do cromatógrafo, em termos de eluentes distinguiram-se da seguinte forma:

Inverno: eluente A (fase móvel) – 16 mM NaOH e eluente B (reagenerante) – 200 mM NaOH

Verão: eluente A (fase móvel) – água ultra-pura e eluente B (regenerante) – 200 mM NaOH. Utilizando-se a água ultra-pura como eluente A e reação pós-coluna, foi possível detectar e medir o teor de manose.

Utilizou-se o “eluente degas módulo”, fazendo-se “sparge” por alguns minutos deixando os tanques de eluente em modo “pressurize” com gás hélio para evitar a formação de carbonato no eluente, já que a formação deste compromete a resolução do

cromatógrafo. Foram então injetados 50 µl de amostras e padrões sempre no mesmo tempo indicado no painel da bomba gradiente.

A detecção dos açúcares é feita por um detector amperométrico que possui uma célula de ouro. O açúcar oxida o ouro e os eletrodos ligados a ele fazem a desoxidação, desta forma, através da emissão de sinais elétricos, obtém-se a análise cromatográfica.

As amostras foram diluídas 50 vezes antes da injeção no cromatógrafo para o cálculo dos açúcares de menor (Fucose, Ramnose, Arabinose e Galactose) e maior concentração (Glucose e Xilose).

#### **3.8.2.5 Cálculos no cromatógrafo**

A porcentagem de açúcares nas amostras foi obtida através da fórmula:

$$\text{Fator MULTIPLIER} = \{ 100 / [(PS \times 1000) / 250] \} \times \text{diluição}$$

Onde:

PS = peso seco da amostra em gramas

1000 = correção para litro

250 = volume do balão utilizado

100 = correção para percentual

Fator MULTIPLIER = fator de diluição utilizado no software (Peak Net) do equipamento para cálculos.

### **3.9 Análise dos dados**

#### **3.9.1 Teste de comparação de médias**

Os dados das análises biométricas e bioquímicas obtidos foram submetidos à análise estatística descritiva e ao Teste t de Student de comparação de médias ao nível de 95% de confiança, testando-se as hipóteses  $H_0$ : há diferença significativa entre condições testadas e  $H_a$ : não há diferença significativa entre condições testadas.

#### **3.9.2 Análise multivariada por componentes principais (PCA)**

Os dados coletados para os diferentes parâmetros foram também analisados com a metodologia de componentes principais de análise multivariada (PCA) para testar a variabilidade de resposta dos mesmos em relação as épocas sazonais inverno e verão. A PCA é uma técnica de redução de dimensionalidade linear que identifica direções de discrepância ortogonal máxima nos dados originais projetando-os em um espaço de dimensionalidade reduzida formado pelos componentes de alta discrepância. Neste estudo, um espaço de duas dimensões ou dois componentes principais denominados de pc1 e pc2 foram satisfatórios para a análise. Para tanto, foi utilizado o programa PC-ORD® versão 3.12 (MJM Software Design, Gleneden Beach, Oregon, USA).

## **4 RESULTADOS**

### **4.1 Teste de comparação de médias**

#### **4.1.1 Efeito da sazonalidade**

##### **4.1.1.1 Variação de carboidratos**

Com relação aos açúcares estudados (Fucose, Ramnose, Arabinose, Galactose, Glucose, Manose e Xilose), para o clone A, o Teste t aplicado somente foi significativo para o açúcar Arabinose ( $P < 0.05$ ) com periodicidade de coleta a cada 9 dias sendo que, durante o verão foi observado o maior teor percentual médio de Arabinose (2.63%). Para o clone B, o Teste t foi significativo ( $P < 0.05$ ) para os açúcares Ramnose com periodicidade de coleta a cada 5 dias, apresentando maior teor percentual deste açúcar (0.59%) durante o inverno; Arabinose, apresentando maior teor percentual médio durante o verão; e Glucose, com periodicidade de coleta a cada 9 dias, apresentando maior teor percentual médio (25.77%) durante o inverno (Tabela 3).



Tabela 3. Teores médios de carboidratos (%)

Condições Testadas	Carboidratos (%) (peso/volume)						
	Fucose	Ramnose	Arabinose	Galactose	Glucose	Xilose	Manose
clone A inv 5 dias	0.16	0.62	2.10	3.19	23.49	5.64	
clone A ver 5 dias	0.19	0.75	2.43	3.10	24.02	5.19	1.44
clone A inv 7 dias	0.18	0.63	2.06	3.21	23.04	6.23	
clone A ver 7 dias	0.18	0.42	2.42	3.06	24.81	5.12	1.51
clone A inv 9 dias	0.14	0.58	1.82	2.90	24.85	6.00	
clone A ver 9 dias	0.22	0.31	2.63*	3.07	24.53	5.59	1.45
clone B inv 5 dias	0.15	0.59	1.87	3.19	21.32	5.69	
clone B ver 5 dias	0.19	0.43*	2.21	3.08	22.89	4.97	1.23
clone B inv 7 dias	0.14	0.59	1.89	2.76	19.93	4.95	
clone B ver 7 dias	0.33	0.69	2.48	3.13	25.32	6.08	1.51
clone B inv 9 dias	0.17	0.68	2.04	2.90	25.80	6.82	
clone B ver 9 dias	0.17	0.45	2.42*	2.96	21.11*	5.42	1.24

Nota: \*Teste t significativo ( $P < 0.05$ ) para comparação entre teores médios de açúcares do mesmo material genético, com mesma periodicidade de coleta, para verificação de efeito da sazonalidade

#### 4.1.1.2 Sobrevivência

Pela comparação de médias não ocorreu diferença estatística significativa entre o número de mudas sobreviventes aos 35 dias tanto para o clone A quanto para o clone B, entre as épocas sazonais inverno e verão para os mesmos períodos de coleta (Tabela 4). Com exceção da periodicidade de coleta aos 7 dias, para o clone B ( $P < 0.05$ ), onde a maior taxa de sobrevivência foi observada na época de verão.

Tabela 4. Percentual médio de mudas sobreviventes

Periodicidade de coleta	Clone A inv	Clone A ver	Clone B inv	Clone B ver
5 dias	87.10	90.38	95.71	96.38
7 dias	91.43	97.50	96.55	98.92*
9 dias	97.32	97.80	93.69	95.77

Nota: \*Teste t significativo ( $P < 0.05$ ) para comparação entre percentuais médios de sobrevivência do mesmo material genético, com mesma periodicidade de coleta, para verificação de efeito da sazonalidade

Para ambas as estações, o maior percentual médio de estacas sobreviventes deu-se quando do período de coleta a cada 9 dias para o clone A e período de coleta a cada 7 dias para o clone B. A estação verão apresenta maior percentual médio de sobrevivência que o inverno, para todas as periodicidades de coleta.

#### 4.1.1.3 Produção vegetal

##### 4.1.1.3.1 Número de estacas/cepa

Para ambos os clones estudados, o Teste t aplicado resultou em diferença significativa entre a produtividade de estacas (número de estacas/cepa) em diferentes épocas sazonais ( $P < 0,05$ ) para as três periodicidades de coleta consideradas (Tabela 5). No verão sempre foram observados os maiores números médios de estacas produzidas/cepa, ou seja, as maiores produtividades.

Tabela 5. Número médio de estacas/cepa produzidas

Periodicidade de coleta	Clone A inv	Clone A ver	Clone B inv	Clone B ver
5 dias	1.68	6.39*	2.11	6.35*
7 dias	2.03	7.52*	2.69	7.34*
9 dias	3.78	9.55*	4.50	9.15*

Nota: \*Teste t significativo ( $P < 0.05$ ) para comparação entre número médio de estacas produzidas/cepa do mesmo material genético, com mesma periodicidade de coleta, para verificação de efeito da sazonalidade

#### 4.1.1.3.2 Biomassa seca

##### 4.1.1.3.2.1 Parte aérea

Aplicando-se o Teste t para os dados de biomassa seca (em mg) de parte aérea das mudas constatou-se que não há diferenças estatísticas significativas (Tabela 6) em função da sazonalidade para todas as condições testadas (5, 7 e 9 dias de coleta).

Entretanto, assim como para o clone A, o clone B, durante a estação verão produziram as maiores quantidades de biomassa seca de parte aérea e que, embora não tenham sido constatadas diferenças estatísticas entre as condições testadas, biologicamente as estacas parecem ter sido influenciadas pela sazonalidade.

Tabela 6. Produção média de biomassa seca de parte aérea ( $\mu\text{gg}^{-1}\text{MF}$ )

Periodicidade de coleta	Clone A inv	Clone A ver	Clone B inv	Clone B ver
5 dias	1.30	3.30	2.20	5.00
7 dias	1.50	3.80	2.10	5.10
9 dias	1.60	3.40	2.00	5.20

Nota: \*Teste t significativo ( $P < 0.05$ ) para comparação entre produção média de biomassa seca de parte aérea do mesmo material genético, com mesma periodicidade de coleta, para verificação de efeito da sazonalidade

#### 4.1.1.3.2.2 Sistema radicular

Em termos de biomassa seca de sistema radicular produzida, para os dois clones estudados, sob todas as condições testadas não foram verificadas diferenças estatísticas ( $P > 0.05$ ) – Tabela 7.

Tabela 7. Produção média de biomassa seca de sistema radicular ( $\mu\text{gg}^{-1}\text{MF}$ )

Periodicidade de coleta	Clone A inv	Clone A ver	Clone B inv	Clone B ver
5 dias	1.30	1.10	1.80	1.60
7 dias	1.30	1.40	1.70	1.70
9 dias	1.70	1.30	1.40	1.90

Nota: \*Teste t significativo ( $P < 0.05$ ) para comparação entre produção média de biomassa seca de sistema radicular do mesmo material genético, com mesma periodicidade de coleta, para verificação de efeito da sazonalidade

## **4.1.2 Efeito da periodicidade de coleta**

### **4.1.2.1 Variação de carboidratos**

Para ambos os clones estudados, A e B, tanto no verão como no inverno, os testes de comparação de médias aplicados aos dados não foram significativos. Apenas o açúcar Ramnose, para o clone A, durante a época de verão apresentou diferença significativa ( $P < 0.05$ ) em seu teor, para comparação entre as periodicidades de coleta a cada 5 (apresentando maior teor médio - 0.75%) e 9 dias (teor percentual médio igual a 0.31%)(Tabela 8).

Tabela 8. Teores médios de carboidratos (%)

Condições Testadas	Carboidratos (%) (peso/volume)						
	Fucose	Ramnose	Arabinose	Galactose	Glucose	Xilose	Manose
clone A inv 5 dias	0.16	0.62	2.10	3.198	23.49	5.64	
clone A inv 7 dias	0.18	0.63	2.06	3.21	23.04	6.23	
clone A inv 9 dias	0.14	0.58	1.82	2.90	24.85	6.00	
clone B inv 5 dias	0.15	0.59	1.87	3.19	21.32	5.69	
clone B inv 7 dias	0.14	0.59	1.89	2.76	19.93	4.95	
clone B inv 9 dias	0.17	0.68	2.04	2.90	25.80	6.82	
clone A ver 5 dias	0.19	0.75**	2.43	3.10	24.02	5.19	1.44
clone A ver 7 dias	0.18	0.42	2.42	3.06	24.81	5.12	1.51
clone A ver 9 dias	0.22	0.31**	2.63	3.07	24.53	5.59	1.45
clone B ver 5 dias	0.19	0.43	2.21	3.08	22.89	4.97	1.23
clone B ver 7 dias	0.33	0.69	2.48	3.13	25.32	6.08	1.51
clone B ver 9 dias	0.17	0.45	2.42	2.96	21.11	5.42	1.24

Nota: \*\*Teste t significativo ( $P < 0.05$ ) para comparação entre teores médios de açúcares do mesmo material genético, na mesma época sazonal, para verificação de efeito da periodicidade de coleta

#### 4.1.2.2 Sobrevivência

Aplicando-se o Teste t para verificar se houve ou não diferença significativa entre as periodicidades de coleta com relação ao número de mudas sobreviventes, verificou-se que somente entre as periodicidades de 9 e 5 dias para o clone A e entre as periodicidades de 7 e 9 dias para o clone B, durante a estação de inverno, houve diferença significativa entre as condições testadas ( $P < 0.05$ ). Para o clone A, a periodicidade de coleta a cada 9 dias apresentou maior percentual médio de sobrevivência (97.32%), enquanto para o clone B, a periodicidade de coleta a cada 7 dias apresentou maior percentual médio de sobrevivência (96.55%). – Tabela 9. Assim como para o clone A, para o clone B, durante o verão, comparando-se os três períodos de coleta de estacas, constatou-se que não houve diferença estatística ( $P > 0.05$ ) entre as condições testadas.

Tabela 9. Percentual médio de mudas sobreviventes

Periodicidade de coleta	Clone A inv	Clone B inv	Clone A ver	Clone B ver
5 dias	87.10**	95.71	90.38	96.38
7 dias	91.43	96.55**	97.50	98.92*
9 dias	97.32**	93.69**	97.80	95.77

Nota: \*\*Teste t significativo ( $P < 0.05$ ) para comparação entre percentual médio de sobrevivência do mesmo material genético, na mesma época sazonal, para verificação de efeito da periodicidade de coleta

#### 4.1.2.3 Produção vegetal

##### 4.1.2.3.1 Número de estacas/cepa

Durante a época sazonal inverno, para os dois clones estudados, estatisticamente não foram encontradas variações significativas ( $P < 0.05$ ) na produção de estacas em função da periodicidade de coleta.

Entretanto, durante o verão, para o clone A foram constatadas diferenças significativas no número de estacas produzidas/cepa para a comparação feita entre as periodicidades de coleta a cada 5 e 9 dias e 7 e 9 dias ( $P < 0.05$ ). Com relação ao clone B, também durante o verão, o Teste t demonstrou que houve diferença significativa entre as três periodicidades de coleta testadas (Tabela 10). Para os dois clones, tanto no inverno quanto no verão, o maior número médio de estacas produzidas/cepa ocorreu quando a coleta de estacas foi realizada a cada 9 dias.

Tabela 10. Número médio de estacas/cepa produzidas

Periodicidade de coleta	Clone A inv	Clone B inv	Clone A ver	Clone B ver
5 dias	1.68	2.11	6.39**	6.35**
7 dias	2.03	2.69	7.52**	7.34**
9 dias	3.78	4.50	9.55**	9.15**

Nota: \*\*Teste t significativo ( $P < 0.05$ ) para comparação entre percentual médio de sobrevivência do mesmo material genético, na mesma época sazonal, para verificação de efeito da periodicidade de coleta

#### 4.1.2.3.2 Biomassa seca

##### 4.1.2.3.2.1 Parte aérea

Não foram encontradas diferenças estatísticas significativas ( $P > 0.05$ ) sobre a periodicidade de coleta na produção de biomassa seca de parte aérea (Tabela 11).

No entanto, a produção de biomassa do clone a durante o inverno foi maior com periodicidade de coleta a 9 dias e durante o verão, com periodicidade de coleta a cada 7 dias. Para o clone B, as mais produtivas periodicidades de coleta foram 5 e 9 dias durante inverno e verão, respectivamente.



Tabela 11. Produção média de biomassa seca de parte aérea ( $\mu\text{gg}^{-1}\text{MF}$ )

Periodicidade de coleta	Clone A inv	Clone B inv	Clone A ver	Clone B ver
5 dias	1.30	2.20	3.30	5.00
7 dias	1.50	2.10	3.80	5.10
9 dias	1.60	2.00	3.40	5.20

Nota: \*\*Teste t significativo ( $P < 0.05$ ) para comparação entre produção média de biomassa seca de parte aérea do mesmo material genético, na mesma época sazonal, para verificação de efeito da periodicidade de coleta

#### 4.1.2.3.2.2 Sistema radicular

O Teste t aplicado para comparação de produtividade de biomassa seca radicular não foi significativo estatisticamente ( $P > 0.05$ ) para todas as condições avaliadas (Tabela 12).

Do mesmo modo que para a produção de biomassa seca de parte aérea, em termos de biomassa seca do sistema radicular, para o clone A, durante o inverno a periodicidade de coleta mais produtiva foi aquela a cada 9 dias e durante o verão aquela a cada 7 dias. Para o clone B as mais produtivas periodicidades de coleta foram 5 e 9 dias durante inverno e verão, respectivamente.

Tabela 12. Produção média de biomassa seca de sistema radicular ( $\mu\text{gg}^{-1}\text{MF}$ )

Periodicidade de coleta	Clone A inv	Clone B inv	Clone A ver	Clone B ver
5 dias	1.30	1.80	1.10	1.60
7 dias	1.30	1.70	1.40	1.70
9 dias	1.70	1.40	1.30	1.90

Nota: \*\*Teste t significativo ( $P < 0.05$ ) para comparação entre produção média de biomassa seca de sistema radicular do mesmo material genético, na mesma época sazonal, para verificação de efeito da periodicidade de coleta

## 4.2 Análise por componentes principais (PCA)

Em relação ao pc1, considerando-se a análise por componentes principais (PCA) de todos os parâmetros avaliados, permitiu-se observar uma clara distinção entre as estações inverno e verão (distâncias horizontais), efeito bem marcante da sazonalidade. O lado direito do gráfico de ordenação (segundo e quarto quadrantes) foi ocupado somente pelas condições testadas durante o verão enquanto as condições testadas durante o inverno ficaram distribuídas no lado esquerdo (primeiro e terceiro quadrantes). Além disso, a Figura 5 ilustra que as condições testadas estão mais dispersas no lado esquerdo (época sazonal inverno), considerando a distribuição ao longo de pc2 que permitiu observar diferenças entre as periodicidades de coleta.

O clone A, na época de inverno, com periodicidade de coleta a cada 9 dias apresenta comportamento distinto daquele apresentado quando a periodicidade de coleta ocorreu a cada 5 e 7 dias (comportamentos semelhantes, muito próximos). Durante o verão o comportamento do clone A se assemelha entre as periodicidades de coleta a cada 7 e 9 dias.

Tanto no inverno quanto no verão, o clone B apresentou maior sensibilidade aos períodos de coleta, como observado pelas maiores distâncias entre os períodos de coleta deste clone quando comparadas as distâncias entre os períodos de coleta no clone A.

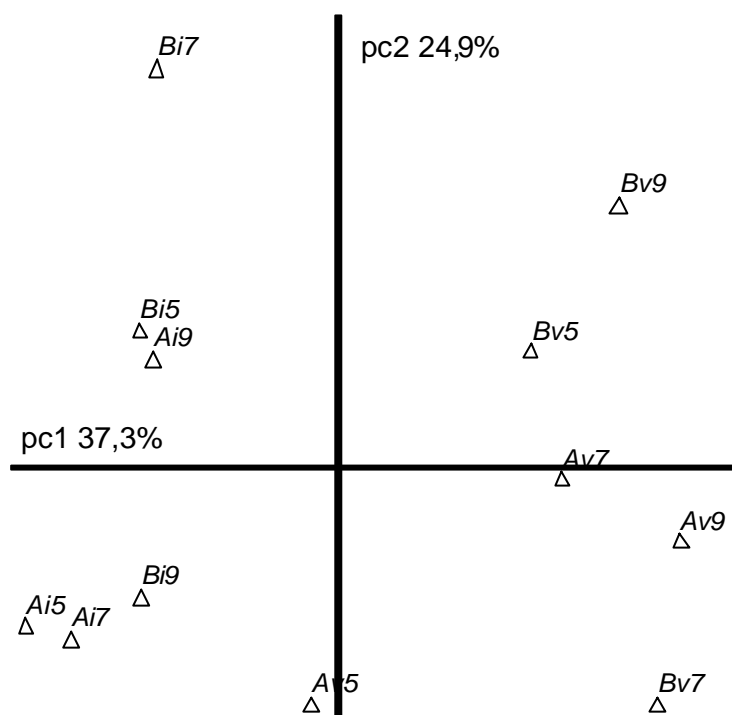


Figura 5 - Gráfico de ordenação

Distribuição das condições testadas em relação ao primeiro e segundo componentes principais. As letras A e B representam os clones, as letras i e v representam as estações inverno e verão, os números 5, 7 e 9, as periodicidades de coleta e pc1 e pc2, os componentes principais

Os parâmetros que apresentaram maior importância em relação ao primeiro componente principal (pc1), explicando 37.30% da variabilidade dos dados, em ordem decrescente de importância foram (Tabela 13): número de estacas produzidas/cepa; biomassa seca produzida de parte aérea; teor de arabionose; percentual de sobrevivência e teor de fucose.

O segundo componente principal (pc2), explicou 24.90% da variabilidade dos dados e os parâmetros mais significativos, predominantemente açúcares, em relação a ele foram: teor de glucose; biomassa seca produzida de sistema radicular; teor de galactose, teor de fucose e teor de xilose, (Tabela 13).

Tabela 13. Autovetores dos coeficientes das variáveis parametrizadas

	AVA	Variáveis e AVE									
	fuc	ram	ara	gal	glu	xil	sobr	est/cep	MSPA	MSSR	
pc1	3.70	0.31	0.30	0.44	0.02	0.09	0.17	0.33	0.49	0.47	0.11
pc2	2.50	0.35	0.25	0.25	0.39	0.50	0.30	0.26	0.04	0.05	0.45

Nota: Autovalores (AVA) e autovetores (AVE) retidos para análise da matriz de correlação. pc1 = primeiro componente principal; pc2 = segundo componente principal; fuc = fucose; ram = ramnose; ara = arabionse; gal = galactose; glu = glucose; xil = xilose; sobr = percentual de sobrevivência; est/cep = estacas produzidas/cepa; MSPA = biomassa seca de parte aérea; MSSR = biomassa seca de sistema radicular

## 5 DISCUSSÃO

Buscando-se analisar o efeito da sazonalidade e período de coleta na qualidade de estacas de plantas jovens de eucalipto, utilizadas na propagação vegetativa, foram realizadas análises estatísticas através do Teste t de Student (comparação de médias) a 95% de significância e também pela análise por componentes principais (PCA). Embora não tenham sido constatadas diferenças estatísticas significativas (pelo Teste t) entre a maioria das condições testadas neste trabalho, pôde-se verificar que biológica e fisiologicamente foram observadas diferenças entre as condições testadas, como sugerido pela Análise por componentes principais (PCA).

As condições climáticas e ambientais (temperatura, umidade, precipitação), do local onde foi desenvolvido o trabalho, não apresentam variações em seus valores médios em função das estações inverno e verão. Entretanto, a radiação solar líquida foi o fator ambiental que mais variou entre as épocas sazonais (diferença de 72 watts/m<sup>2</sup> - Figura 1).

Dentro do viveiro algumas condições ambientais (como por exemplo, disponibilidade de nutrientes e água, umidade, temperatura) podem ser controladas e, sendo assim, a radiação líquida (luz) é o principal fator ambiental responsável pelas diferenças biológicas encontradas entre as condições testadas no trabalho.

## 5.1 Efeito da sazonalidade

Avaliando-se o efeito da sazonalidade nos teores de açúcares (valores correspondentes à soma de teores dos açúcares estudados) para os clones A e B, observa-se que ocorreu um aumento de 9.1% no verão em relação ao inverno. Essa diferença sazonal nos teores de açúcares pode estar relacionada à produção de fotoassimilados produzidos pelos processos fotossintéticos. Apesar dos processos fotossintéticos não terem sido medidos diretamente neste trabalho, foram mensurados os parâmetros biométricos consequentes destes processos.

Para Cranswich et al. (1987) o conteúdo de carboidratos depende do balanço entre a produção média de carboidratos na fotossíntese e o uso desses carboidratos no crescimento e respiração. Em seu estudo, Grace et al. (1987) demonstraram que para *Pinus radiata* a média de fotossíntese de uma árvore nos longos dias de verão (entre novembro e janeiro) é aproximadamente três vezes maior que dos curtos dias de inverno (junho e julho).

Nossos resultados sugerem que o ganho em açúcares podem ter propiciado um aumento médio na biomassa seca das mudas de  $1.47\mu\text{gg}^{-1}$  (durante o inverno) para  $3.50\mu\text{gg}^{-1}$  (durante o verão) para o clone A e de  $2.10\mu\text{gg}^{-1}$  (durante o inverno) para  $5.10\mu\text{gg}^{-1}$  (durante o verão) para o clone B, o que proporcionou um incremento de 138% e 143% em biomassa para os clones A e B, respectivamente.

Comparando-se a sobrevivência dos clones em função da sazonalidade, obteve-se um aumento médio de 91.95% (inverno) para 95.23% (verão) para o clone A, representando um ganho de 2.60% na sobrevivência e de 95.31% (inverno) para 97.00% (verão) para o clone B, representando um ganho de 1.69% na sobrevivência.

Também em termos de número de estacas produzidas/cepa obteve-se um aumento médio de 2.50 estacas/cepa (inverno) para 7.82 estacas/cepa (verão) para o clone A e de 3.10 estacas/cepa (inverno) para 7.61 estacas/cepa (verão) para o clone B,

representando um ganho de 5.32 (212.80%) e 4.50 (145.48%) na produção de estacas para os clones A e B, respectivamente.

A sobrevivência e posteriormente a performance no campo de mudas desenvolvidas em viveiros dependem da habilidade para resistir aos danos por estresses ambientais como frio, seca, injúrias por podas mecânicas e para estabelecer rapidamente o contato entre raiz e solo (Tinus et al., 2000). O potencial de enraizamento e crescimento são muito afetados pela estação do ano, pelas práticas culturais e de manejo aplicadas durante o desenvolvimento das mudas no viveiro e por diversos fatores endógenos. Entretanto, não está exatamente claro o modo como estes fatores afetam o potencial de enraizamento e crescimento (Krueger & Trappe, 1967; Cannel et al., 1990; Coleman et al., 1992).

Para todas as condições testadas e parâmetros avaliados, a estação verão pode ser considerada a mais produtiva quando comparada ao inverno.

## **5.2 Efeito da periodicidade de coleta**

A análise dos teores totais de açúcares (valores correspondentes à soma de teores dos açúcares estudados), indicam um incremento de 2.50% e 6.50%, para os clones A e B, respectivamente, quando alterada a periodicidade de coleta cada a 5 para 9 dias.

Os teores de açúcares aumentaram com o aumento da periodicidade de coleta. Tal fato provavelmente está relacionado com o aumento da área foliar uma vez que podas reduzem a área foliar e causam injúrias e, em resposta, os ferimentos mecânicos podem alterar a mobilização de carboidratos reduzindo os estocados e reservas.

Em plantas estabelecidas em campo, sob ótimas condições de crescimento, a poda altera o metabolismo do carbono, com a mobilização dos monossacarídeos à custa dos polissacarídeos presentes nas raízes e das reservas de amido que são esgotadas

durante o crescimento vigoroso (Tschaplinski & Blake, 1995; Garcia et al., 2001). Entretanto, em condições de viveiro, onde a planta ainda está sendo formada e apresenta restrições de crescimento do sistema radicular, as folhas são a principal fonte de produção de fotoassimilados, açúcares e hormônios, portanto, esta mobilização de carboidratos das raízes para parte aérea é pouco provável.

Aumentando-se a periodicidade de coleta, aumenta-se a área foliar específica, permitindo assim a maior produção de fotoassimilados e aumento nos níveis endógenos de carboidratos no caule.

Variações nos teores de açúcares foram acompanhadas de um aumento de 10% no percentual de sobrevivência para o clone A com o aumento da periodicidade de coleta de 5 para 9 dias. O clone B não seguiu o mesmo padrão e apresentou aumento no percentual de sobrevivência (3.20%) com a redução da periodicidade de coleta de 9 para 7 dias.

Para os demais parâmetros biométricos (número de estacas produzidas/cepa, biomassa seca de parte aérea e de sistema radicular), o clone A manteve o mesmo modelo, aumentando seus valores em função do aumento da periodicidade de coleta. Entretanto, o clone B não apresentou esta tendência em aumentar os valores dos parâmetros biométricos avaliados em função da periodicidade de coleta, demonstrando não apresentar grande suscetibilidade ao seu efeito.

Estes resultados indicaram que existe um período ótimo de coleta de estacas para cada clone e que esta periodicidade pode estar relacionada aos teores endógenos de açúcares presentes nas estacas no momento da coleta, gerando ganhos na sobrevivência e acúmulo de biomassa das mudas e na produtividade.

A iniciação de raízes, crescimento, desenvolvimento e sobrevivência das mudas jovens são processos que demandam bastante energia e o manejo fisiológico para aumentar os carboidratos na planta muitas vezes faz-se necessário (Penchel).<sup>1</sup>



A presença de carboidratos tem mostrado ser essencial para a produção de biomassa e manutenção da sobrevivência da estaca durante enraizamento e aclimatação. A partir de dados operacionais da Aracruz Celulose S. A., sabe-se que a sobrevivência diminui proporcionalmente ao decréscimo nos teores de açúcares (Penchel).<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> PENCHEL, R.M. Relatório Confidencial do Projeto P2002-03, Propagação Vegetativa do eucalipto - Aracruz Celulose S.A., 14p., 2002.

## **6 CONCLUSÕES**

Os parâmetros biométricos avaliados neste trabalho, bem como o teor de açúcares nas estacas obtidas das plantas matrizes, representam bons indicadores de seleção de brotações com melhores condições para a sobrevivência, ganhos em biomassa, crescimento relativo e produtividade. Estes ganhos estão diretamente relacionados ao aumento dos níveis de carboidratos em função da época do ano e da periodicidade de coleta de brotos.

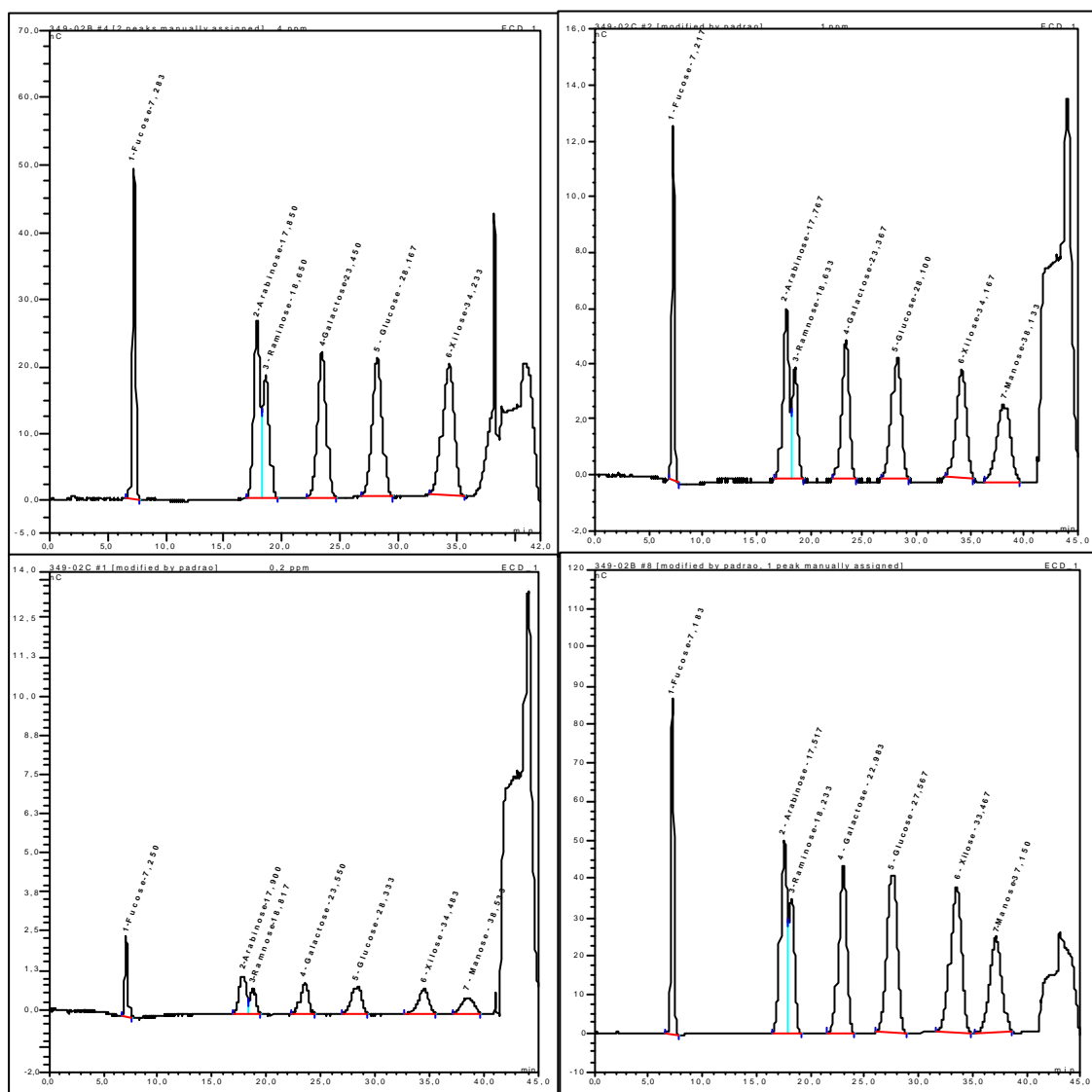
Foi demonstrado que existe uma periodicidade de coleta ótima e diferente para cada clone, estando também relacionada ao teor endógeno de carboidratos. De forma geral, para todos os parâmetros avaliados, a estação verão é a mais indicada para coleta de estacas, uma vez que se trata da estação mais produtiva e em termos de periodicidade de coleta, também de modo genérico para todos os parâmetros avaliados, a coleta a cada 9 dias mostrou-se a mais indicada.

## **ANEXOS**

## Anexo A - Padrões de açúcares

Padrões de açúcares						
Mistura de padrões	mg/l	Pureza (%)	Preparo das diluições			
			Volume ml/100ml			
			0.2ml/l	1.0ml/l	4.0ml/l	8.0ml/l
Fucose	91.915	0.950	0.1838	0.9191	3.6765	
Ramnose	96.675	0.990	0.1933	0.9667	3.8669	
Arabinose	99.790	0.990	0.1996	0.9979	3.9917	
Galactose	98.705	0.990	0.1974	0.9870	3.9481	7.896
Glucose	99.400	0.995	0.1988	0.9940	3.9760	7.952
Xilose	99.100	0.990	0.1982	0.9910	3.9640	
Manose	98.755	0.990	0.1975	0.9875	3.9501	

Anexo B - Cromatograma: açúcares solúveis e respectivos tempos de retenção e curvas dos Padrões 0.2, 1.0, 4.0 e 8.0ppm



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACESITA/BIOPLANTA. Enraizamento de estacas e micropropagação de *Eucalyptus*. **Sol & Solo**, v.15, p.1-4, 1987.
- ALTMAN, A.; WAREING, P.F. The effect of IAA on sugar accumulation and basipetal transport of  $^{14}\text{C}$ -labelled assimilates in relation to root formation in *Phaseolus vulgaris* cuttings. **Physiologia Plantarum**, v.33, p.32-38, 1975.
- ANDERSEN, A.S.; HANSEN, J.; VEIERSKOV, B.; ERICSEN, E.N. Stock plant conditions and root initiation on cuttings. **Acta Horticulturae**, n.54, p.33-37, 1975.
- ASSIS, T.F. Propagação vegetativa de *Eucalyptus* por microestaquia. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALIPTS, Salvador, 1997. **Anais**. Colombo: EMBRAPA, CNPF, 1997. v.1, p.300-304.
- BARROS, N.F.; NEVES, J.C.L.; NOVAIS, R.F. Recomendação de fertilizantes minerais em plantios de eucalipto. In: GONÇALVES, J.L.M.; BENEDETTI, V. (Ed.). **Nutrição e fertilização florestal**. Piracicaba: IPEF, 2000. p.270-286.
- BERTOLOTI, G.; GONÇALVES, A.N. Enraizamento de estacas: especificações técnicas para construção do módulo de enraizamento. **Circular Técnica IPEF**, n.94, p.1-7, 1980.

- BERTOLOTI, G.; MORA, A.L.; GONÇALVES, A.N. Enraizamento de estacas de *Eucalyptus camaldulensis* e *Eucalyptus tereticornis*. **Boletim Informativo IPEF**, v.9, n.28, p. 73-79, jun. 1981.
- BERTOLUCCI, F.L.G.; PENCHEL, R.M. CLonagem do eucalipto: efeitos sobre a produtividade e qualidade da madeira. **Ciência Hoje**, v.16, n. 91, p.16-21, 1993.
- BORGES, E.E.L. Enraizamento de estacas de *Eucalyptus saligna* e *Eucalyptus grandis*. Viçosa, 1978. 78p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
- BOWES, O. Simple methods for propagation by cuttings. **Bonsai Bulletin**, v.3, p.1-23, 1965.
- BUENO, S.C.S. Estudo de diversos métodos de propagação da aceroleira (*Malpighia glabra* L.). Piracicaba, 1995. 76p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- CAMPINHOS JÚNIOR, E. Propagacion vegetativa de *Eucalyptus* spp. por enraizamento de estacas. In: SIMPOSIO SOBRE SILVICULTURA Y MEJORAMIENTO GENETICO DE ESPECIES FORESTALES, Buenos Aires, 1987. **Anais**. Buenos Aires: CIEF, 1987. v.1, p.208-214.
- CANNELL, M.G.R.; TABBUSH, P.M.; DEANS, J.D.; HOLLINGSWORTH, M.K.; SHEPPARD, L.J.; PHILLIPSON, J.J.; MURRAY, M.B. Sitka spruce and Douglas-fir seedlings in the nursery and in cold storage: root growth potential, carbohydrate content, dormancy, frost hardiness and mitotic index. **Forestry**, v.63, p.9-27, 1990.
- CARRERA GARCIA, M.V.S. La propagacion vegetativa en el genero Pinus. **Ciência Florestal**, v.2, n.7, p.3-29, 1977.

CHAMPAGNOL, F. Relation entre la formation de pousse et de racines par une bouture de vigne et la quantité d'amidon initialement présente. **Comptus Rendus Académie des Sciences**, v.67, p.1398-1405, 1981.

COLEMAN, W.K.; ESTABROOKS, E.N., O'HARA, M.; EMBLETON J.; KING, R. Seasonal changes in cold hardiness, sucrose and sorbitol in apple trees treated with plant growth regulators. **Journal of Horticultural Science**, 67, p.429-435, 1992.

COOPER, M.A.; GRAÇA, M.E.C. Perspectivas para a maximização de enraizamento de estacas de *Eucalyptus dunnii*. **Circular Técnica EMBRAPA/CNPF**, n.12, p.1-9, jul.1987.

CRANSWICK, A. M.; ROOK, D.A.; ZABKIEWICZ, J. A. Seasonal changes in carbohydrate concentration and composition of different tissue types of *Pinus radiata* trees. **New Zeland Journal of Forestry Science**, v.17, n.2/3, p.229-245, 1987.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA)/CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE SOLOS (CNPS). **Levantamento Generalizado e semidetalhado de solos da Aracruz Celulose S.A. no Estado do Espírito Santo e no extremo sul do Estado da Bahia e sua aplicação nos plantios de eucalipto**. Rio de Janeiro: EMBRAPA Solos, 2000. 111p.

FACHINELLO, J.C. Efeitos morfo-fisiológicos do anelamento no enraizamento de estacas lenhosas de macieira cultivar malling-merton 106. Piracicaba, 1986. 93p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.



- GARCIA, H.; NYGREN, P.; DESFONTAINES, L. Dynamics of nonstructural carbohydrates and biomass yield in a fodder legume tree at different harvest intensities. **Tree Physiology**, v.21, p.523-531, 2001.
- GHOLZ, H. L.; CROPPER JR, W.P. Carbohydrate dynamics in mature *Pinus elliottii* var. *elliottii* trees. **Canadian Journal of Forest Research**, v.21, p.1741-1747, 1991.
- GRACE, J.C.; JARVIS, P.G.; NORMAN, J.M. Modelling the interception of solar radiant energy in intensively managed forests. **New Zealand Journal of Forestry Science**, v.17, p.193-209, 1987.
- HAISSIG, B.E. Metabolism during adventitious root primordium initiation and development. **New Zealand Journal of Forest Science**, v.4, p.324-337, 1974.
- HAISSIG, B.E. Carbohydrate and amino acid concentrations during adventitious root primordium development in *Pinus banksiana* Lamb. cuttings. **Forest Science**, v.28, p.813-821, 1982.
- HAISSIG, B.E. The rooting stimulus in pine cuttings. **Proceedings of the International Plant Propagators Society**, v.32, p.625-638, 1983.
- HAISSIG, B.E. Carbohydrate accumulation and partitioning in *Pinus banksiana* seedlings and seedling cuttings. **Physiologia Plantarum**, v.61, p.13-19, 1984.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E. **Propagacion de plantas**: principios y practicas. México: Continental, 1962. 693p.
- HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E. **Plant propagation**; principles and practices. 2. ed. New Jersey: Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1968. 702p.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E. **Plant propagation**. New Jersey: Prentice-Hall, 1975. 662p.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E. **Plant propagation** :principles and practices. 4. ed. Englewood Cliffs: Pretice-Hall, c1983. 727p.

HARTMANN, H.T.; FLOCKER, W.J.; KOFRAWEK, A.M. **Plant science**: growth, development and utilization of cultivated plants. New Jersey: Prentice-Hall, 1981, 676p.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES, JÚNIOR., F.T. **Plant propagation**: principles and practices. 5.ed. New York; Englewood Clippis: Prentice-Hall, 1990. 647p.

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

HENRIQUE, A. Efeitos fisiológicos de fitorreguladores no enraizamento de estacas de *Pinus taeda* L. e *Pinus caribaea* var. *hondurensis* Morelet. Botucatu, 2001. 121p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

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.4-6, jan./fev.2000a.

- HIGASHI, E.N.; SILVEIRA, R.L.V.A.; GONÇALVES, A.N. Propagação vegetativa de *Eucalyptus*: princípios básicos e a sua evolução no Brasil. **Circular Técnica IPEF**, n.192, p.1-11, out.2000b.
- IKEMORI, Y.M. **Resultados preliminares sobre enraizamento de estacas de *Eucalyptus* spp.** Aracruz: Centro de Pesquisas Florestais da Aracruz, 1975a. v.1, 8p.
- IKEMORI, Y.M. **Resultados preliminares sobre enraizamento de estacas de *Eucalyptus* spp.** Aracruz: Centro de Pesquisas Florestais da Aracruz, 1975b. v.2, 12p.
- INOUE, M.T.; VIEIRA, J.D.; CORREA, G. Estudo comparativo do desempenho fotossintético entre mudas micropropagadas e estaquiadas de 4 clones do híbrido *Eucalyptus grandis* X *Eucalyptus urophylla*. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 6., Campos do Jordão, 1990. Campos do Jordão: SBS; SBEF, 1990. v.3, p.493-496.
- JACKSON, M.B. **New root formation in plants and cuttings.** Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1986. 265p.
- KOMISSAROV, D.A. **Biological basis for the propagation of woody plants by cuttings.** Jerusalem: Israel Program for Scientific Translations, 1969, 250p.
- KRAMER, P.J.; KOZLOWSKI, T.T. **Fisiologia das árvores.** Lisboa: Calouste Gulbenkian, 1972. 745p.
- KRUEGER, K.; TRAPPE, J.M. Food reserves and seasonal growth of Douglas-fir seedlings. **Forest Science**, v.13, p.192-202, 1967.

- LEÓN, P.; SHEEN, J. Sugar and hormone connections. **Trends in Plant Science**, v.8, n.3, p.110-116, 2003.
- MALAVASI, U.C. Macropropagação vegetativa em coníferas: perspectivas biológicas e operacionais. **Floresta e Ambiente**, n.1, p.131-135, 1994.
- MIDDLETON, W.; JARVIS, B.C.; BOOTH, A. The role of leaves in auxin and borondependent rooting of stem cuttings of *Phaseolus aureus* Roxb. **The New Phytologist**, v.84, p.251-259, 1980.
- MONTAIN, C.R.; HAISISIG, B.E.; CURTIS, J. D. Differentiation of adventitious root primordia in callus of *Pinus banksiana* seedlings cuttings. **Canadian Journal of Forest Research**, v.13, p.195-200, 1983.
- MORA, A.L.; GARCIA, C.H. **A cultura do eucalipto no Brasil**. São Paulo: SBS, 2000. 112p.
- NEWELL, E. A.; MULKEY, S.S.; WRIGHT, S.J. Seasonal patterns of carbohydrates storage in four tropical trees species. **Oecologia**, v.131, p.333-342, 2002.
- NORBERTO, P.M. Feitos da época de poda, cianamida hidrogenada, irrigação e ácido indolbutírico na colheita antecipada e enraizamento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.). Lavras, 1999. 89p. Dissertação (Mestrado.) - Universidade Federal de Lavras.
- ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Jaboticabal: UNESP, 1996. 81p.

- PATRICK, J.W.; WAREING, P.F. Auxin promoted transport of metabolites in stems of *Phaseolus vulgaris* L. Effects at the site of hormone application. **Journal of Experimental Botany**, v.27, p. 969-982, 1976.
- PENCHEL, R.M.; LYRA, I.N. Relationship between cell wall carbohydrates and adventitious root formation in the clonal propagation of stem cuttings of Eucalyptus. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE BIOLOGY OF ROOT FORMATION AND DEVELOPMENT, 2., Jerusalém, 1996. **Resumos**. Jerusalém, 1996. p11-12.
- PENCHEL, R.M.; NEVES, D.C.; CAMPINHOS, C.N.; EVANGELISTA, A.L.; DESCHAMPS, C. Otimização de parâmetros fisiológicos da propagação vegetativa por estaquia de matrizes elite de *Eucalyptus*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 5., Lavras, 1995. **Resumos**. Lavras: UFLA, 1995. p.83.
- REUVENI, O.; RAVIV, M. Importance of leaf retention to rooting of avocado cuttings. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.106, p.127-130, 1980.
- REUVENI, O.; ADATO, I. Endogenous carbohydrates, root promoters and root inhibitors in easy and difficult to root date palm (*Phoenix dactylifera* L.) offshoots. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 99, p.361-363, 1974.
- ROSSE, L.N.; DAVIDE, A.C.; BERTOLUCCI, F.L.; RAMALHO, M.P. Estimativa de parâmetros genéticos e fenotópicos da capacidade de rebrotamento e do enraizamento de estacas de clones de *Eucalyptus* spp. **Revista Árvore**, v.20, n.1, p.51-56, jan./mar.1996.

- SCHABERG, P.G.; SNYDER, M.C.; SHANE, J.B.; DONNELLY, J.R. Seasonal patterns of carbohydrates reserves in red spruce seedlings. **Tree Physiology**, 20, 549-555, 2000.
- SILVA, O.R. Enraizamento de estacas de *Eucalyptus grandis* via sistema hidropônico. Viçosa, 1998. 142p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
- STRÖMQUIST, L.H.; ELIASSON, L. Light inhibition of rooting in Norway spruce (*Picea abies*) cuttings. **Canadian Journal of Botany**, v.57, p.1314-1316, 1979.
- TINUS, R.W.; BURR, K.E.; ATZMON, N.; RIOV, J. Relationship between carbohydrate concentration and root growth potential in coniferous seedlings from three climates during cold hardening and dehardening. **Tree Physiology**, v.20, p.10097-1104, 2000.
- TSCHAPLINSKI, T.J.; BLAKE, T.J. Growth and carbohydrate status of coppice shoots of hybrid poplar following shoot pruning. **Tree Physiology**, v.15, p.333-338, 1995.
- VALLE, C. F. Enraizamento de estacas de *Eucalyptus* sp. **Boletim Informativo IPEF**, v.6, n.16, p.1-5, jul/1978.
- 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.
- VEIERSKOV, B.; ANDERSEN, A.S. Influence of cotyledon excision and sucrose on root formation in pea cuttings. **Physiologia Plantarum**, v.36, p.105-109, 1976.
- VEIERSKOV, B.; ANDERSEN, A.S. Dynamics of extractable carbohydrates in *Pisum sativum* III. The effect of IAA and temperature on content and translocation of carbohydrates in pea cuttings during rooting. **Physiologia Plantarum**, v.55, p.179-182, 1982.

- 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, abr./jun.2000a.
- 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, abr./jun.2000b.
- XAVIER, A. **Silvicultura clonal I**: princípios e técnicas de propagação vegetativa. Viçosa: UFV, 2002. 64p.
- XAVIER, A.; COMÉRIO, J. Microestaquia: Uma maximização da micropropagação de *Eucalyptus*. **Revista Árvore**, v.20, n.1, p.9-16, jan./mar.1996.
- XAVIER, A.; WENDLING, I. Miniestaquia na clonagem de *Eucalyptus*. **Informativo Técnico SIF**, v.11, p.10, 1998.
- XAVIER, A.; ANDRADE, H.B.; OLIVEIRA, M.L.; WENDLING, I. Desempenho do enraizamento de microestacas e miniestacas de clones híbridos de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v.25, n.4, p.403-411, 2001.
- ZANI FILHO, J.; BALLONI, E.A. Enraizamento de estacas de *Eucalyptus*: efeitos do substrato e do horário de coleta do material vegetativo. **IPEF**, n.40, p.39-42, 1988.
- ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; RODRIGUES, J.D. Relações entre épocas do ano e diferentes concentrações de ácido indol butírico no enraizamento de estacas de *Eucalyptus grandis*. **Boletim de Pesquisa Floresta**, n.42, p.61-70, jan./jul.2001.