

ALEX CAETANO PIMENTA

**INTERAÇÕES ENTRE REGULADORES VEGETAIS, ÉPOCAS DO ANO
E TIPOS DE SUBSTRATO NO ENRAIZAMENTO DE ESTACAS
CAULINARES DE *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax.**

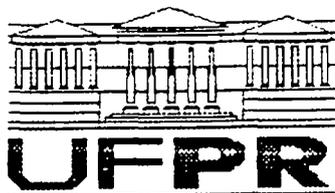
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Katia Christina
Zuffellato-Ribas

Co-orientadores: Prof. Dr. Brás H. de Oliveira
Dr. Antonio A. Carpanezi
Prof. Dr. Henrique S. Koehler

CURITIBA

2003



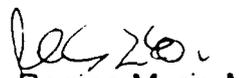
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E FITOSSANITARISMO
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
PRODUÇÃO VEGETAL

PARECER

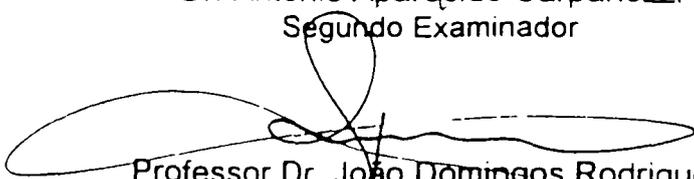
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, reuniram-se para realizar a arguição da Dissertação de MESTRADO, apresentada pelo candidato **ALEX CAETANO PIMENTA**, sob o título “**INTERAÇÕES ENTRE REGULADORES VEGETAIS, ÉPOCAS DO ANO E TIPOS DE SUBSTRATO NO ENRAIZAMENTO DE ESTACAS CAULINARES DE *Sapium glandulatum* (VELL.) PAX.**”, para obtenção do grau de Mestre em Ciências do Curso de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

Após haver analisado o referido trabalho e arguido o candidato são de parecer pela “**APROVAÇÃO**” da Dissertação.

Curitiba, 28 de Novembro de 2003.


Professora Dra. Regina Maria Monteiro de Castilho
Primeira Examinadora


Dr. Antonio Aparecido Carpanezi
Segundo Examinador


Professor Dr. João Domingos Rodrigues
Terceiro Examinador


Professora Dra. Katia Christina Zuffellato Ribas
Presidente da Banca e Orientadora

A minha mãe, Dona **Helena Pinheiro Pimenta**, como uma forma de retribuição a tudo que fez para que esse trabalho se realizasse. Pelo seu carinho e amor no incentivo da minha felicidade. Por tudo que me ensinou e, principalmente, por ser essa mãe tão humilde e dedicada, mesmo agora que já não está mais entre nós.

Ao meu pai, Seu **Joaquim Caetano Pimenta** que com sacrifícios sempre tirou da terra a alegria transmitida aos filhos. Por me ensinar amar a vida em todos os aspectos e fazer de cada momento o mais importante.

DEDICO

“QUANDO DEUS QUER UMA OBRA OS
OBSTÁCULOS SÃO OS MEIOS”
(Julio Chevalier)

AGRADECIMENTOS

À **Professora Dra. Katia Christina Zuffellato-Ribas**, minha orientadora e amiga, que sempre me guiou com veemência e fidelidade no caminho da ciência.

Aos meus co-orientadores **Professor Dr. Brás Heleno de Oliveira**, **Professor Dr. Henrique Soares Koehler** e **Dr. Antonio Aparecido Carpanezzi**, pela dedicada co-orientação e pelos ensinamentos específicos.

À **Professora Dra. Maria Regina Torres Boeger**, pelo uso do laboratório.

À **Amiga MSc. Elisângela da Graça B. Paes**, que sempre esteve presente discutindo idéias e ajudando no trabalho de campo.

Aos **Amigos Vero, Amilcar, Paulino, Irineu e Sr. Wilson**, funcionários da Embrapa, pela dedicação nos experimentos; em especial ao Vero, pelas plantas matrizes.

À **Embrapa Florestas**, pelo apoio financeiro, particularmente ao **Pesquisador Dr. Fernando Rodrigues Tavares**.

A todos do **Laboratório de Produtos Naturais**, Departamento de Química – UFPR.

À **Silvia J. Ritter**, pelo amor, paciência e compreensão dedicada ao longo desses “distantes” anos.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE ANEXOS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1 O GÊNERO <i>Sapium</i>	03
2.2 A ESPÉCIE <i>Sapium glandulatum</i>	04
2.3 AUXINAS	06
2.4 COMPOSTOS FENÓLICOS E UNICONAZOL	11
2.5 ÉPOCA DE COLETA	15
2.6 SUBSTRATO	17
2.7 CROMATOGRAFIA	19
3 MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 LOCAL DE INSTALAÇÃO	21
3.2 OBTENÇÃO E PREPARO DAS ESTACAS	21
3.3 TRATAMENTOS DAS ESTACAS	23
3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	25
3.5 VARIÁVEIS AVALIADAS	25
3.6 ANÁLISES FITOQUÍMICAS	26
3.6.1 Análise dos compostos fenólicos e do aminoácido triptofano	26
3.6.2 Análise do ácido indol acético (método adaptado de OLSSON <i>et al.</i> , 1996	27

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1 PRIMAVERA	29
4.1.1 Interações entre substratos utilizados e tratamentos das estacas	29
4.1.2 Interações entre uniconazol e ácido indol butírico	31
4.2 VERÃO, OUTONO E INVERNO	35
4.2.1 Verão	35
4.2.2 Outono e inverno	36
4.3 COMENTÁRIOS SOBRE AS QUATRO ÉPOCAS ESTUDADAS	38
4.4 ANÁLISES FITOQUÍMICAS	40
4.4.1 Compostos fenólicos e triptofano	40
4.4.2 Ácido indol acético	44
5 CONCLUSÕES	47
REFERÊNCIAS	48
ANEXOS	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultados da análise de variância para o número de estacas de <i>Sapium glandulatum</i> enraizadas, vivas e mortas, coletadas na primavera de 2001 .	29
Tabela 2 – Resultados da comparação dos substratos para porcentagem de estacas de <i>Sapium glandulatum</i> enraizadas, vivas e mortas, pelo teste de Tukey, coletadas na primavera de 2001	30
Tabela 3 – Resultados da análise de variância para o número de estacas de <i>Sapium glandulatum</i> enraizadas, vivas e mortas coletadas na primavera de 2001 e plantadas nos substratos vermiculita e casca de arroz carbonizada	31
Tabela 4 – Resultados da comparação das médias para porcentagem de estacas de <i>Sapium glandulatum</i> enraizadas, vivas e mortas entre os tratamentos sem e com uniconazol (UZ), pelo teste de Tukey, coletadas na primavera de 2001	32
Tabela 5 – Resultados da comparação das médias obtidas para porcentagem de estacas de <i>Sapium glandulatum</i> enraizadas, vivas e mortas entre os tratamentos e nos substratos vermiculita e casca de arroz carbonizada, coletadas na primavera de 2001	33
Tabela 6 – Resultados das médias obtidas para porcentagem de estacas de <i>Sapium glandulatum</i> vivas e mortas entre os tratamentos nos substratos vermiculita e casca de arroz carbonizada, coletadas no verão de 2002	35
Tabela 7 – Resultados das médias obtidas para porcentagem de estacas de <i>Sapium glandulatum</i> vivas e mortas entre os tratamentos nos substratos vermiculita e casca de arroz carbonizada, coletadas no outono de 2002	37
Tabela 8 – Resultados das médias obtidas para porcentagem de estacas de <i>Sapium glandulatum</i> vivas e mortas entre os tratamentos nos substratos vermiculita e casca de arroz carbonizada, coletadas no inverno de 2002 ...	37

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Mecanismo de biossíntese de ácido indol acético a partir do aminoácido triptofano (SALISBURY e ROSS, 1992; HOPKINS, 1999; TAIZ e ZEIGER, 2004)	07
Figura 02 – Mecanismo de biodegradação do ácido indol acético (SALISBURY e ROSS, 1992; HOPKINS, 1999; TAIZ e ZEIGER, 2004)	08
Figura 03 – Relações hipotéticas de vários co-fatores levando à iniciação de raízes adventícias em estacas (HARTMANN <i>et al.</i> 2002)	11
Figura 04 – Mecanismo simplificado da biossíntese de giberelinas a partir do ácido mevalônico (ARTECA, 1996; TAIZ e ZEIGER, 2004)	14
Figura 05 – Plantas matrizes de <i>Sapium glandulatum</i> no campo, Colombo, PR, 2003 .	22
Figura 06 – Estacas de <i>Sapium glandulatum</i> , Colombo, PR, 2003	23
Figura 07 – Tratamento das estaca de <i>Sapium glandulatum</i> com o fungicida Benlate®, Colombo, PR, 2003	24
Figura 08 – Estacas enraizadas de <i>Sapium glandulatum</i> , Colombo, PR, 2003	34
Figura 09 – Cromatograma dos padrões dos compostos fenólicos (ácido gálico, ácido 4-hidroxibenzóico, ácido caféico e ácido m-cumárico) e do aminoácido triptofano	41
Figura 10 – Cromatograma da amostra de <i>Sapium glandulatum</i> evidenciando o suposto ácido hidroxibenzóico (primavera de 2001)	41
Figura 11 – Espectro no ultravioleta do padrão de ácido hidroxibenzóico, evidenciando o pico com 254,0 nm	43

Figura 12 – Espectro no ultravioleta da amostra de <i>Sapium glandulatum</i> referente ao suposto ácido hidroxibenzoico, evidenciando o pico com 289.5 nm (primavera de 2001)	43
Figura 13 – Cromatograma do padrão de ácido indol acético (IAA)	44
Figura 14 – Cromatograma da amostra de <i>Sapium glandulatum</i> visando o IAA (primavera de 2001)	45
Figura 15 – Cromatograma da amostra de <i>Sapium glandulatum</i> com adição de 0,4 µg de IAA do padrão (primavera de 2001)	45

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 –	Temperaturas médias da máxima, média e da mínima mensal da região de Pinhais - PR, durante outubro de 2001 a setembro de 2002	58
Anexo 2 –	Resultados em ordem decrescente das porcentagens de estacas de <i>Sapium glandulatum</i> enraizadas, para os tratamentos utilizados nos substratos vermiculita e casca de arroz carbonizada, coletadas na primavera de 2001, Colombo, PR, 2003	59
Anexo 3 –	Resultados em ordem decrescente da média geral das porcentagens de estacas de <i>Sapium glandulatum</i> vivas, nos substratos vermiculita e casca de arroz carbonizada, coletadas na primavera de 2001, verão, outono e inverno de 2002, Colombo, PR, 2003	60
Anexo 4 –	Resultados em ordem decrescente da média geral das porcentagens de estacas de <i>Sapium glandulatum</i> mortas, nos substratos vermiculita e casca de arroz carbonizada, coletadas na primavera de 2001, verão, outono e inverno de 2002, Colombo, PR, 2003	61

RESUMO

O pau-de-leite (*Sapium glandulatum* (Vell.) Pax., Euphorbiaceae) é uma árvore nativa de vários biomas brasileiros, com grande interesse para a recuperação de ecossistemas degradados devido a sua rusticidade e ornitocoria intensa. Contudo, sua propagação sexuada é difícil, uma vez que a maioria das flores é masculina e a porcentagem de germinação das sementes é muito baixa. Considerando a dificuldade de propagação via sementes, durante os anos de 2001 e 2002 foram realizados trabalhos de propagação vegetativa via estaquia na Embrapa Florestas (Colombo-PR). Foram confeccionadas estacas semilenhosas de 15 cm de comprimento e duas folhas com 50% de sua área, coletadas nas quatro estações do ano. As bases das estacas foram tratadas com 0, 6000 e 12000 mg L⁻¹ ácido indol butírico (IBA), associado ou não com 100 mg L⁻¹ de uniconazol (UZ) em solução por 10 segundos de imersão. Posteriormente, as estacas foram plantadas em caixas de polipropileno contendo vermiculita e casca de arroz carbonizada, sendo mantidas em casa-de-vegetação com nebulização por 70 dias. Cada tratamento foi repetido 4 vezes com 20 estacas por parcela, num delineamento inteiramente casualizado. Foram utilizados dois arranjos fatoriais, sendo o primeiro constituído de 6 tratamentos de estacas em 2 substratos e o segundo, de 3 doses de IBA na presença e ausência de UZ, perfazendo um total de 960 estacas por época do ano. Nas avaliações foram observadas as variáveis: porcentagem de enraizamento; porcentagem de sobrevivência e porcentagem de mortalidade. A maior porcentagem de enraizamento (11,3%) ocorreu na primavera de 2001 com 6000 mg L⁻¹ IBA + 100 mg L⁻¹ UZ no substrato casca de arroz carbonizada. A mortalidade das estacas foi superior a 88% em todas as épocas e tratamentos estudados. Para elucidar as causas do baixo enraizamento da espécie, foram iniciadas investigações com o propósito de determinar a presença de compostos fenólicos atuantes no enraizamento de estacas e determinar as concentrações endógena de triptofano e de ácido indol acético (IAA), os quais apresentam, dentre seus efeitos fisiológicos, a indução radicial. Após extração com tampão fosfato e purificação em coluna de sílica, a amostra foi analisada por cromatografia líquida de alta eficiência, sendo encontrado um composto não identificado e baixa concentração de IAA. O aminoácido triptofano não foi detectado na amostra.

Palavras-chave: Pau-de-leite, estaquia, auxina, compostos fenólicos, CLAE.

INTERACTIONS BETWEEN PLANT GROWTH REGULATORS, SEASONS OF THE
YEAR AND GROWING MEDIA IN THE ROOTING OF STEM CUTTINGS
OF *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax.

ABSTRACT

Pau-de-leite (*Sapium glandulatum* (Vell.) Pax., Euphorbiaceae) is a native tree of several Brazilian biomes, with great interest for rehabilitation of degraded ecosystems due to its rusticity and intense ornithic traits. However, its sexual propagation is difficult because the majority of the flowers are male and seed germination is very low. Considering the propagation difficulty using seeds, during the years of 2001 and 2002 a trial of vegetative propagation by cuttings were done at the Embrapa Florestas (Colombo-PR). Stem cuttings of approximately 15 cm of length and two half leaves left, collected during the four seasons of the year, were tested. The stem cuttings were treated at the base with 0, 6000 and 12000 mg L⁻¹ of only indolebutyric acid (IBA) or associated with 100 mg L⁻¹ of uniconazol (UZ) in solution by 10 seconds. Once treated the cuttings were planted in polypropylene boxes with vermiculite and carbonized rind of rice growing media, remaining in a greenhouse under intermittent mist during 70 days. Data were analyzed using a completely randomized design with 12 treatments with 4 replications each, the experimental unit being 20 cuttings. The treatments represent a factorial arrangement of the 6 doses tested over the two growing media and another factorial arrangement of the 3 doses IBA tested with presence and absence UZ, totaling 960 cuttings for each season. The variables evaluated were rooted stem cutting percentage, alive stem cutting and dead stem cutting percentage. The highest rooted stem cutting percentage (11.3%) occurred in the spring of 2001 with 6000 mg L⁻¹ IBA + 100 mg L⁻¹ UZ in carbonized rind of rice growing media. Dead stem cutting percentage was upper 88% in all seasons for all tested treatments. Aiming to explain the causes of the low rooting of the species, a research were started with the objective of determining the presence of active phenolic compounds and the presence of endogenous concentration of tryptophan and indoleacetic acid (IAA) in the rooting stem cuttings, because they might have, among its physiological effects, the radicial induction. After extraction with phosphate bung and purification in silica column, the sample was analyzed by high performance liquid chromatography, with finding of a not identified phenol and low IAA concentration. Tryptophan amino acid was not found.

Key words: Pau-de-leite, cutting, auxin, phenolic compounds, HPLC.

1 INTRODUÇÃO

Popularmente conhecida como pau-de-leite ou leiteiro, *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. (Euphorbiaceae) é uma planta decídua e heliófila comum em beira de estradas, cursos d'água e encostas de barrancos. No Brasil, encontra-se expressivamente distribuída desde os Estados do Rio Grande do Sul a Minas Gerais, em biomas variados como os campos sulinos, florestas estacionais, florestas ombrófilas e outros. Também é encontrada no Paraguai, nordeste da Argentina e Uruguai (SANCHOTENE, 1989; LORENZI, 1992).

Dentre as utilidades desta espécie, a melhor aplicação se dá na reabilitação de ecossistemas degradados, pela sua capacidade de regeneração natural, intensa ornitocoria, rápido crescimento e resistência ao frio e à seca (SANCHOTENE, 1989; PALAZZO JUNIOR e BOTH, 1993; FERREIRA *et al.*, 2001a). Todavia, as sementes desta espécie são recalcitrantes com baixa taxa de germinação. Além disso, na ausência de umidade a semente perde o poder germinativo. Isso faz com que a propagação vegetativa por estaquia seja mais comumente utilizada (SANCHOTENE, 1989).

A propagação vegetativa via estaquia é uma técnica que pode garantir a disseminação das espécies que apresentam alguma restrição na germinação de sementes e assegurar outros benefícios como a conservação de clones, ecótipos ou variedades importantes, além de antecipar o período de florescimento. Essa técnica de propagação é amplamente empregada na horticultura e na silvicultura devido suas facilidade, rapidez e eficiência (IRITANI, 1981; SILVA, 1985).

A obtenção de plantas por estaquia é um processo lento e impraticável para algumas espécies que não possuem a composição química endógena necessária. Esse obstáculo pode ser resolvido com o emprego de alguns reguladores vegetais, especificamente do grupo das auxinas e de co-fatores do enraizamento, que além de estimularem e acelerarem o enraizamento das estacas, uniformizam e induzem a formação de raízes em plantas tidas como de difícil enraizamento (ONO *et al.*, 1994). Dentre os co-fatores do enraizamento estão as substâncias derivadas do triazol como o uniconazol, que tem induzido a formação de raízes em estacas, por ser um retardante vegetal, atuando em antagonismo às giberelinas (HARTMANN *et al.*, 2002).

Outro fator de grande relevância que pode afetar o enraizamento de estacas, principalmente em plantas de difícil enraizamento, é o substrato (HOFFMANN *et al.*, 1994; TILLMANN *et al.*, 1994). Este deve apresentar boa capacidade de retenção de água para evitar a desidratação e porosidade adequada para permitir as trocas gasosas (KÄMPF, 2000a; HARTMANN *et al.*, 2002).

Assim, se a utilização de auxinas, retardantes vegetais e diferentes substratos podem influenciar no enraizamento de estacas, então o tratamento de estacas caulinares com uma concentração ideal de ácido indol butírico associado a uniconazol com posterior plantio em um substrato que contenha as características necessárias ao enraizamento, poderá levar à definição de um protocolo para a propagação vegetativa via estaquia da espécie em questão, porque a combinação desses fatores pode ser essencial ao enraizamento de estacas.

Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi verificar o enraizamento de estacas caulinares de *Sapium glandulatum* coletadas nas quatro estações do ano submetidas à aplicação de diferentes concentrações de ácido indol butírico associado ou não a uniconazol, em dois tipos de substrato.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O GÊNERO *Sapium*

A família Euphorbiaceae é representada por aproximadamente 290 gêneros e 7.500 espécies distribuídas em todas as regiões tropicais e subtropicais do globo, principalmente da América e da África. No Brasil, ocorrem 72 gêneros compreendendo cerca de 1.100 espécies, de hábito e habitat diferentes (BARROSO, 1984).

Plantas pertencentes a tal família são ricas em compostos fenólicos, especialmente taninos, os quais são usados como medicamentos psicotrópicos e anticancerígenos. Pertencente a esta família encontra-se o gênero *Sapium*, com ampla distribuição pelo planeta. *Sapium sebiferum* (L.) Roxb. é uma das espécies mais importante do gênero, devido a produção de grande quantidade de biomassa, óleo e taninos hidrolisáveis. Dos tecidos desta espécie foram isolados os ácidos clorogênico, chebulágico, gálico e compostos fenólicos comumente utilizados pela indústria farmacêutica (NEERA e ISHIMARU, 1992). Nativa da China, *S. sebiferum* também é empregada como espécie ornamental e no fornecimento de matéria-prima para a produção de sabão e velas (CAMERON, GLUMAC e ESHELMAN, 2000).

Na Indonésia, *Sapium baccatum* Roxb. é utilizada como remédio para o tratamento de asma brônquica e para aliviar a dor. Nesta espécie foi identificado um alcalóide com atividade antiinflamatória e analgésica similar ao ácido acetil salicílico (PANTHONG *et al.*, 1998). *Sapium insigne* Benth. é uma pequena árvore da Índia que produz látex azedo, cicatrizante, que pode causar câncer de pele; compostos com atividade antiinflamatória derivados de phorbol, foram isolados desta espécie (TAYLOR, WILLIAMSON e EVANS, 1983).

Dentre as espécies nativas do Brasil encontram-se, na Amazônia, *Sapium aucuparium* Jacq. e *Sapium hamantum* Pax. Hoffm. que produzem borracha. *S. hamantum* também tem seu látex empregado no tratamento de verrugas, úlceras, elefantíase e sífilis. No Piauí, *Sapium longifolium* Huber. que pode ser empregada na fabricação de caixotes, é

muito utilizada na composição de cercas-vivas, uma vez que basta destacar um de seus ramos e enterrá-lo para que este se desenvolva numa nova planta com muita rapidez (CORRÊA, 1984a). No Estado do Rio Grande do Sul encontra-se *Sapium hoematospermum* Muell. Arg., que produz madeira leve empregada na carpintaria e frutos tóxicos que são utilizados para matar ratos e outros animais (CORRÊA, 1984b).

Embora o gênero *Sapium* seja importante e bem distribuído pelo planeta, poucos são os trabalhos relacionados ao cultivo e manejo de suas espécies. Alguns trabalhos referentes à propagação de *S. sebiferum* direcionam para a reprodução sexuada, porém as sementes apresentam dormência. Sementes desta espécie foram submetidas a tratamentos que variavam desde imersão em água a imersão em ácido sulfúrico concentrado, sendo este último o mais eficaz na germinação (70%) (SIRIL, DHAR e DHYANI, 1998). Na verificação da germinação de sementes de *S. sebiferum* em relação ao tempo de armazenamento e a época de plantio, foi constatado que as sementes armazenadas por dois anos apresentam maior porcentagem de germinação quando comparadas a sementes com zero, quatro, cinco e sete anos de armazenamento. Com relação à época do plantio, os meses de janeiro (94%) e fevereiro (92%) apresentaram maior germinação das sementes que os meses de março (76%), abril (46%) e novembro (82%) (CAMERON, GLUMAC e ESHELMAN, 2000).

Outros estudos de *Sapium* são voltados para a propagação vegetativa utilizando cultura de tecidos. Tecidos de folhas e caules de *S. sebiferum* foram cultivados em meio de cultura com ácido indol acético (IAA), ácido indol butírico (IBA) e ácido indol propiônico (IPA). Com a combinação das três auxinas foi verificado 70% de enraizamento em brotações destes tecidos (MRIDULA, GUPTA e MASCARENHAS, 1983).

2.2 A ESPÉCIE *Sapium glandulatum*

Nativa do Brasil, *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. (Euphorbiaceae), popularmente conhecida como pau-de-leite ou leiteiro, é uma espécie que pode ser encontrada desde os Estados do Rio Grande do Sul a Minas Gerais. Ela tem porte arbóreo, com 5 a 20 m de altura com tronco liso e acinzentado de 20 a 70 cm de diâmetro, reto e cilíndrico quando dentro da floresta. Suas folhas são glabras e se adensam em direção à ponta dos ramos formando uma copa irregular de folhagem clara, levemente avermelhada, caducifolia e lactífera. A madeira é leve (0,5 g cm³), com cerne e alburno brancos, constituídos de tecido

frouxo e mole (INOUE, RODERJAN e KUNIYOSHI, 1984; LORENZI, 1992). Sua inflorescência é tipo espiga, grossa, terminal, com flores amarelas, unissexuadas, sendo maior o número de flores masculinas. Os frutos são cápsulas lenhosas com deiscência explosiva. As sementes são escuras, lustrosas, enrijecidas, com 5 mm de comprimento. Seu florescimento se dá nos meses de setembro a abril, com a maturação dos frutos iniciando no final de dezembro, estendendo-se até abril. As sementes germinam entre 10 a 35 dias após a maturação e a taxa de germinação é geralmente muito baixa (SANCHOTENE, 1989; LORENZI, 1992).

Embora *Sapium glandulatum* não produza um látex de qualidade a ser aproveitado comercialmente, sua madeira pode ser utilizada em caixotaria leve, como partículas para chapa compensada e fornecimento de lenha para carvão. Além disso, a espécie apresenta excelentes características ornamentais que possibilitam empregá-la em diversos logradouros públicos e no paisagismo em geral (INOUE, RODERJAN e KUNIYOSHI, 1984; SANCHOTENE, 1989; LORENZI, 1992). O látex produzido por *Sapium glandulatum* é utilizado como visgo na captura de aves. No campo é comum verificar os ferimentos realizados nos ramos que servem de armadilha ou para a retirada do látex que é transportado para lugares freqüentados por aves.

Estudos anatômicos e ecológicos de *Sapium glandulatum* revelaram hidrocarbonetos com cadeias de C₂₇ e C₂₉, sendo constatada atividade analgésica e antiinflamatória em extratos aquosos das folhas. A espécie apresenta propriedades tóxicas que causam irritação na pele (VALLE e KAPLAN, 2000).

Sapium glandulatum é considerado como um dos principais elementos da flora fanerogâmica de Santa Catarina, como componente do estágio primário e avançado de regeneração da restinga arbustiva e estágio médio de regeneração da restinga arbórea (CONAMA, 1999). A espécie é recomendada para reflorestamentos heterogêneos com fins ecológicos (SANCHOTENE, 1989; LORENZI, 1992).

Em trabalhos relacionados à propagação vegetativa via estaquia de *Sapium glandulatum* foram testados tratamentos contendo IBA e ácido bórico, aplicados em talco e em solução, em estacas coletadas nas quatro estações do ano de 1999. Neste trabalho foi constatado baixo enraizamento, sendo que o verão foi a melhor época para a coleta das estacas, com 28% de enraizamento utilizando 4000 mg L⁻¹ IBA em solução. (FERREIRA *et al.*, 2001a; FERREIRA *et al.*, 2001b). Porém, SANCHOTENE (1989) afirma que o meio mais comum de propagação desta espécie é a estaquia.

2.3 AUXINAS

A palavra *auxina*, de origem grega (*Auxein* – crescer), representa um grupo de compostos indutores do alongamento celular nas regiões meristemáticas de ramos e raízes, além de participar de outros processos fisiológicos como iniciação radicial (ARTECA, 1996). A primeira *auxina endógena isolada* foi o ácido indol acético (IAA), responsável por numerosos processos biológicos (AWAD e CASTRO, 1983).

Os principais centros de síntese de *auxinas* são os tecidos meristemáticos tais como gemas, folhas jovens, extremidades de raízes, flores ou inflorescências de ramos florais em crescimento, frutos e sementes (SALISBURY e ROSS, 1992; MOHR e SCHOPFER, 1995; ARTECA, 1996; CASTRO e VIEIRA, 2001; RAVEN, EVERT e EICHHORN, 2001).

Há vários mecanismos conhecidos para a síntese de IAA, sintetizado a partir do aminoácido triptofano (Figura 1). A via preferida de muitas espécies vegetais provavelmente envolve desaminação do triptofano pela enzima triptofano transaminase, formando ácido pirúvico, o qual é posteriormente descarboxilado, formando aldeído indol acético. Finalmente este aldeído indol acético é oxidado a IAA. Outra via envolve a descarboxilação do triptofano originando triptamina, que sofre uma desaminação formando aldeído indol acético e, posteriormente, IAA (AWAD e CASTRO, 1983; VÁLIO, 1986; SALISBURY e ROSS, 1992; HOPKINS, 1999; TAIZ e ZEIGER, 2004). Além do IAA existem outras substâncias auxínicas endógenas como o ácido indol butírico (IBA), o ácido 4-cloro indol acético (4-Cloro IAA) e o ácido fenil acético (PAA) (SALISBURY e ROSS, 1992).

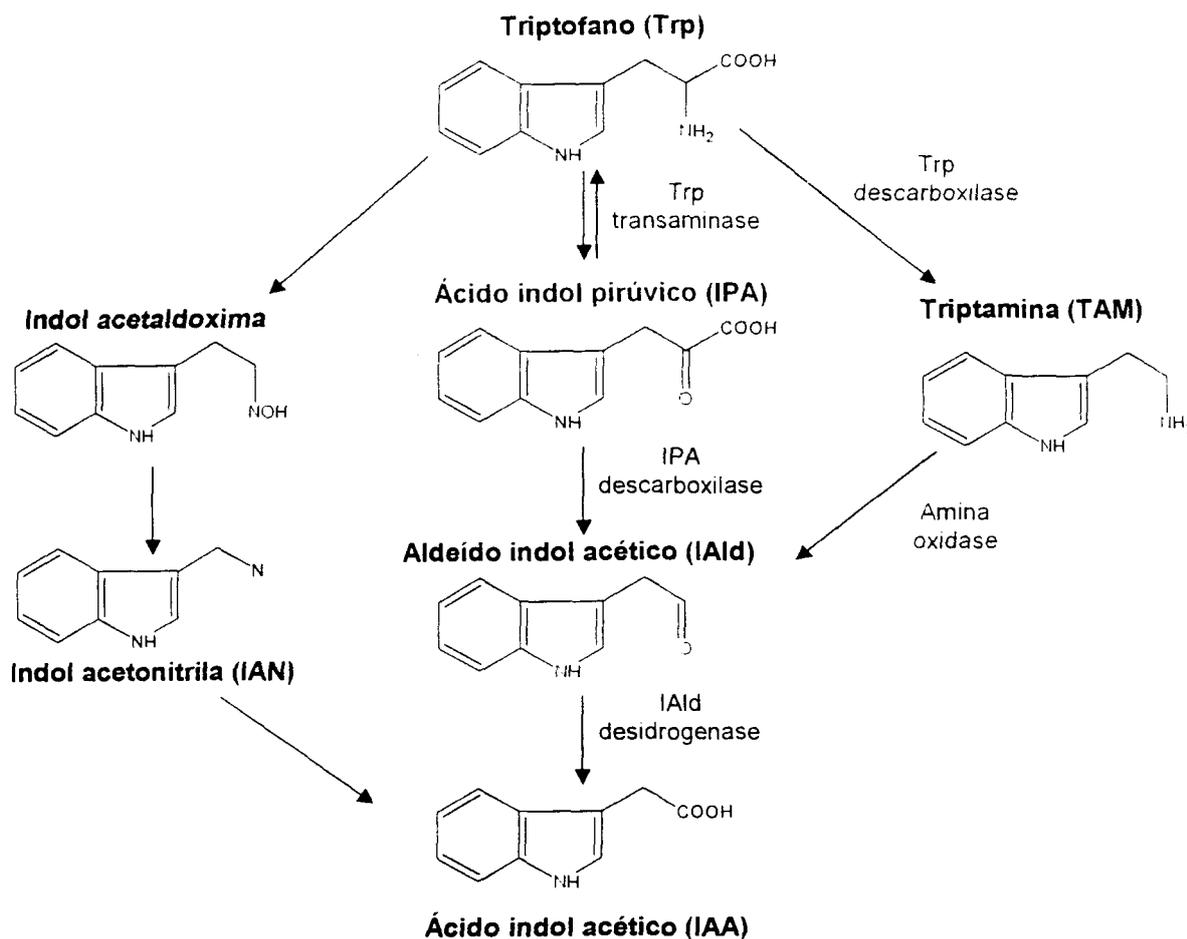


Figura 1 – Mecanismo de biossíntese de ácido indol acético a partir do aminoácido triptofano (SALISBURY e ROSS, 1992; HOPKINS, 1999; TAIZ e ZEIGER, 2004).

O movimento das auxinas tanto em sistemas caulinares como em raízes é lento, com velocidade aproximada de um centímetro por hora. Esse transporte é polar, basípeto nos caules e folhas e acrópeto nas raízes. A auxina é transportada através de células do parênquima do floema, de células parenquimáticas que circundam o tecido vascular e de células da região do câmbio em plantas com crescimento secundário (SALISBURY e ROSS, 1992; RAVEN, EVERT e EICHHORN, 2001).

A auxina endógena, sobretudo o IAA, não é apenas sintetizada nas plantas, mas também inativada durante os processos de crescimento e diferenciação. A inativação se dá por processos fotoquímicos ou enzimáticos que degradam a molécula de IAA. No processo de foto-oxidação os pigmentos riboflavina e violaxantina atuam como catalisadores absorvendo a energia luminosa que ativa a oxidação do IAA. Porém, a foto-oxidação não é o

processo mais importante de inativação do IAA e sim as reações de oxidação catalisadas por enzimas. Esse sistema enzimático que neutraliza a ação do IAA é conhecido como IAA-oxidase/peroxidase (IAA-O) (HESS, 1975; VÁLIO, 1986). A oxidação do IAA (Figura 2) resulta no ácido oxindol acético, e metileno-oxindol (TING, 1982; VÁLIO, 1986; SALISBURY e ROSS, 1992; BANDURSKI *et al.* 1995; TAIZ e ZEIGER, 2004).

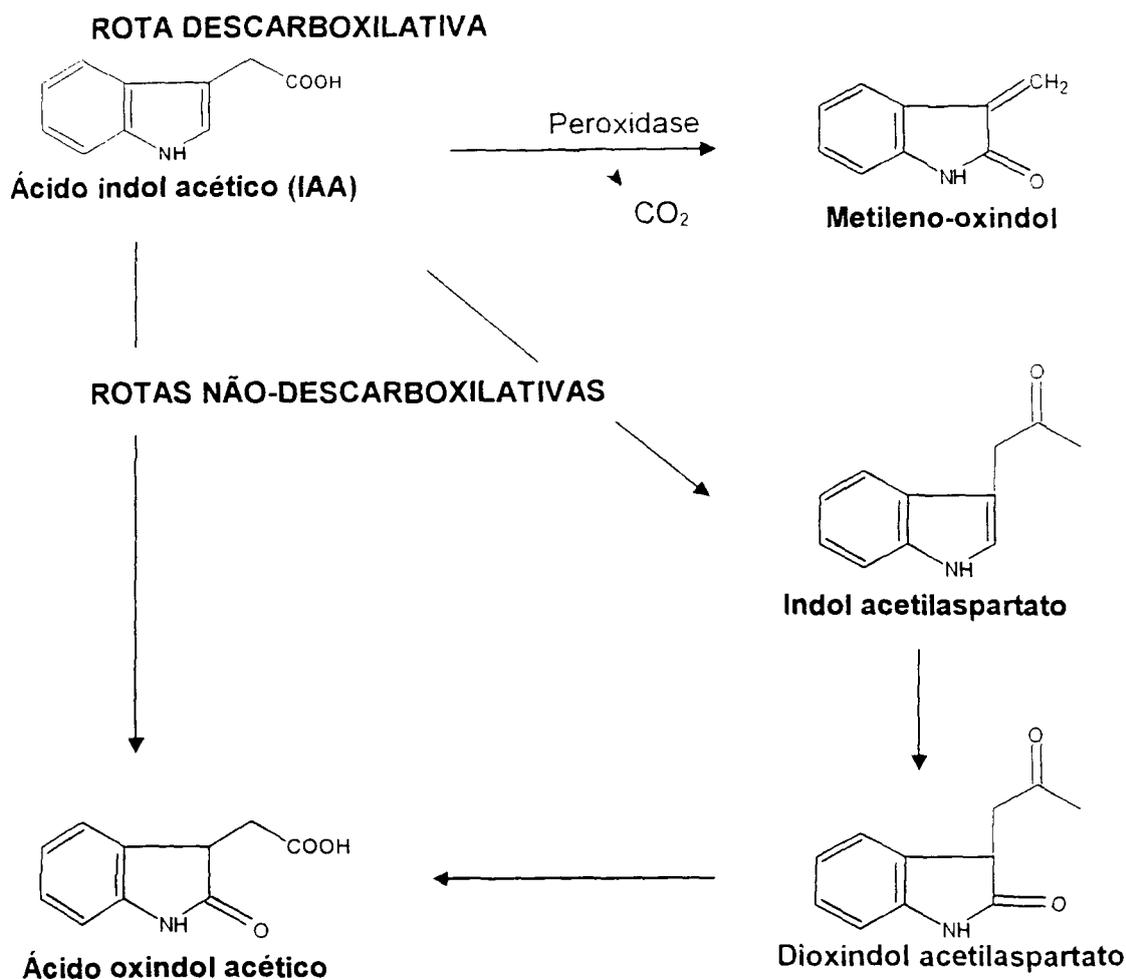


Figura 2 – Mecanismo de biodegradação do ácido indol acético (SALISBURY e ROSS, 1992; HOPKINS, 1999; TAIZ e ZEIGER, 2004).

Após a constatação de que o IAA era a auxina de maior ocorrência nas plantas superiores, iniciou-se uma investigação em busca de compostos sintéticos de constituição química e atividade fisiológica semelhantes ao IAA. Esses estudos levaram a descoberta de substâncias como o ácido indol butírico (IBA) e o ácido naftaleno acético (NAA) dentre outras (AWAD e CASTRO, 1983; CASTRO e VIEIRA, 2001).

A formação de raízes adventícias em estacas é ocasionada em resposta à concentração de auxina, a qual promove o alongamento e divisão celular. Esse alongamento se deve à acidificação da parede celular, em função de uma bomba de prótons que segrega ions hidrogênio para fora da membrana plasmática. A acidificação promove a ativação de enzimas preexistentes com propriedades de romper as ligações glicosídicas entre polissacarídeos da parede celular, tornando-a frouxa. A diferença de potencial hídrico gerada favorece a entrada de água, aumentando o turgor da célula, pela expansão do vacúolo, que por sua vez pressiona a parede celular causando deslizamento das microfibrilas de celulose, sendo as ligações glicosídicas posteriormente reconstituídas. A mitose pode ocorrer em células de tecidos totalmente diferenciados, desde que haja a dediferenciação destas células a células totipotentes (AWAD e CASTRO, 1983; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1997; RAVEN, EVERT e EICHHORN, 2001; TAIZ e ZEIGER, 2004).

Dentre as várias substâncias sintéticas com atividade semelhante ao IAA, o IBA destaca-se pela capacidade de promover formação de primórdios radiciais e acelerar o enraizamento de estacas na propagação vegetativa de inúmeras espécies vegetais (BLEASDALE, 1977; AWAD e CASTRO, 1983). As propriedades das auxinas naturais e sintéticas em promover o enraizamento ajudam apenas a superar algumas das dificuldades inerentes encontradas no processo, podendo ter um efeito inibitório se aplicadas em concentrações inadequadas (BLEASDALE, 1977).

O nível das auxinas encontra-se associado, de maneira muito íntima, à formação de raízes adventícias nas estacas de caules, embora as relações exatas não estejam bem claras. As concentrações de auxina abaixo do nível crítico não são eficazes no enraizamento, porém aquelas acima desse nível impedem a formação de raízes e gemas, podendo ainda causar danos à planta (JANICK, 1966).

Se concentrações de auxinas são aplicadas em células passíveis de alongamento, estas podem produzir efeitos crescentes até um limite máximo da concentração utilizada. Usualmente, os efeitos de crescimentos são produzidos por uma pequena concentração, da ordem de 10^{-7} M, estando a concentração ótima em torno de 10^{-6} M a 10^{-5} M (GALSTON e DAVIES, 1972; HESS, 1975).

Sabe-se que diferentes espécies, quando submetidas a tratamentos auxínicos, sobretudo IBA, visando formação de raízes em estacas, respondem diferentemente conforme a concentração do fitorregulador e a espécie utilizada. Estacas de *Sclerolobium paniculatum* Vogel apresentaram porcentagens de enraizamento de 60% e 52% quando

tratadas com 4000 mg L⁻¹ e 6000 mg L⁻¹ IBA, respectivamente (ROSA, 1997). Entretanto, 4000 mg L⁻¹ IBA agiu de maneira tóxica, influenciando negativamente a sobrevivência das estacas de *Ocotea puberula* Nees. e *Ocotea pretiosa* Benth. e Hook. (SILVA, 1984), e de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. (IRITANI, 1981).

Substâncias auxínicas não influenciaram na porcentagem de enraizamento de estacas de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi.), de canela sassafras (*Ocotea pretiosa*), de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.) (RODRIGUES, 1990), de seringueira (*Hevea* spp) (SANTOS, 1986) e de stevia (*Stevia rebaudiana* Bert.); porém, o ácido indol butírico foi eficiente para aumentar o número de raízes formadas em estacas desta última espécie (CARVALHO e Z Aidan, 1995). Este mesmo fitorregulador, na concentração de 1000 mg L⁻¹, promoveu o enraizamento de estacas de *Psidium guajava* L. em 25%, enquanto na testemunha, apenas 3% enraizaram (GONZÁLES e SCHMIDT, 1992). Concentrações de 1200 mg L⁻¹ IBA, 1800 mg L⁻¹ IBA e 2400 mg L⁻¹ IBA aumentaram significativamente a porcentagem de estacas enraizadas em *Malpighia glabra* L., sendo a maior porcentagem (45%) obtida na concentração mais elevada (ALVES *et al.*, 1991).

Em *Pyrus calleryana* Dcne. os melhores resultados para o total de estacas enraizadas (45,82%) e massa de matéria seca das raízes (0,199 g), foram obtidos utilizando 2000 mg L⁻¹ IBA (ANTUNES *et al.*, 1996). Bons resultados também foram encontrados em *Vaccinium ashei* Reade com 29,41% de enraizamento superior à testemunha quando as estacas foram tratadas com 2000 mg L⁻¹ IBA (HOFFMANN, FACHINELLO e SANTOS, 1995). O tratamento com 2000 mg L⁻¹ IBA associado à sacarose influenciou positivamente a sobrevivência, o brotamento e a formação de calos em estacas de *Ocotea puberula* e *Ocotea pretiosa* (SILVA, 1984). Para o enraizamento de pessegueiro (*Prunus persica* L. Batsch.), são indicadas concentrações entre 2000 mg L⁻¹ IBA e 3000 mg L⁻¹ IBA (TOFANELLI *et al.*, 1997; FINARDI, 1998).

Existem espécies que respondem melhor quanto submetidas a concentrações mais elevadas de IBA, como é o caso da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). Estacas desta espécie foram tratadas com 5000 mg L⁻¹ IBA e 8000 mg L⁻¹ IBA o que resultou em 62% e 47% de enraizamento, respectivamente (EMBRAPA, 1988). Estacas de *Platanus acerifolia* Ait. tratadas com 6000 mg L⁻¹ IBA apresentaram maior porcentagem de enraizamento, maior número de raízes formadas e melhor comprimento das raízes, quando comparadas com estacas sem o fitorregulador (DIAS, FRANCO e DIAS, 1999). Algumas espécies como a lima ácida "Tahiti" (*Citrus latifolia* Tan.) dispensam o uso de fitorreguladores, uma vez que atingem 96% de enraizamento sem tratamento hormonal (PRATI *et al.*, 1999).

Essa variação que ocorre na propagação vegetativa por estaquia entre as diferentes espécies está relacionada à composição endógena da planta. Algumas espécies possuem auxina endógena suficiente para o enraizamento e dispensam totalmente, ou em parte, a aplicação exógena deste composto. Outras, por não possuírem a auxina endógena em concentrações suficientes ao enraizamento, necessitam de complementação com doses mais altas. Além disso, as espécies que não contêm inibidores vegetais têm maior possibilidade de propagação por estaquia.

Os inibidores vegetais, por sua vez, são substâncias reguladoras que retardam os processos de crescimento e desenvolvimento das plantas. Estas substâncias são capazes de reprimir o crescimento de segmentos isolados de caules, bem como inibir a indução radicial, agindo como antagonistas dos promotores (DIETRICH, 1986).

2.4 COMPOSTOS FENÓLICOS E UNICONAZOL

Vários co-fatores estão relacionados com a iniciação de raízes adventícias em estacas, agindo como promotores ou inibidores do enraizamento (Figura 3) (HARTMANN *et al.*, 2002).

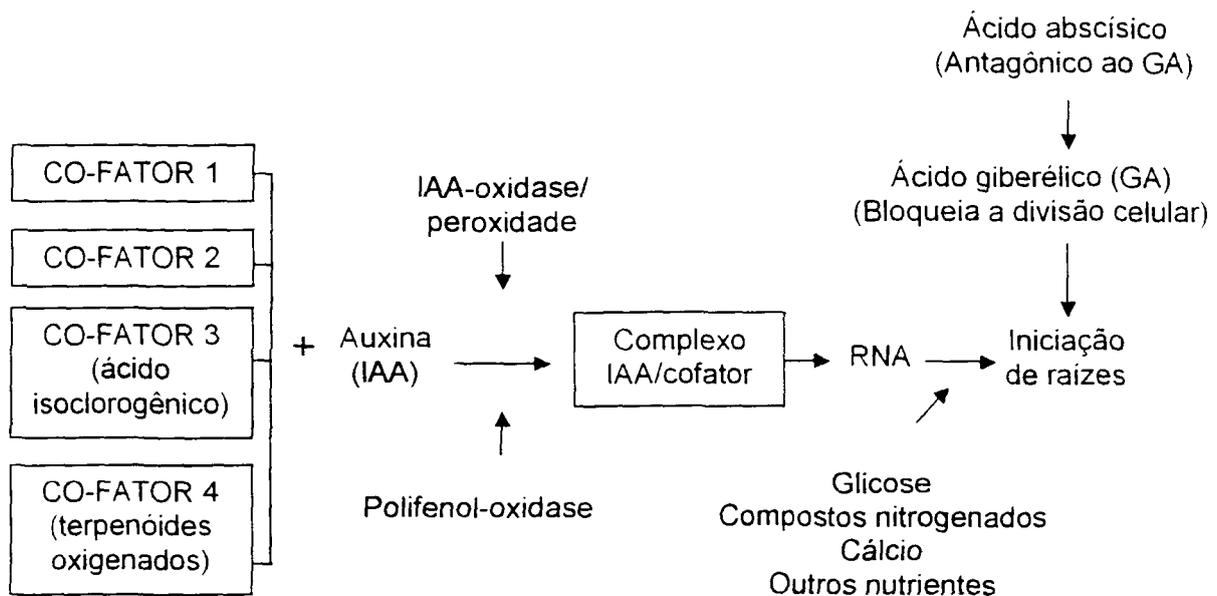


Figura 3 - Relações hipotéticas de vários co-fatores levando à iniciação de raízes adventícias em estacas (HARTMANN *et al.*, 2002).

Com relação ao enraizamento, as plantas podem ser divididas em 3 classes (HARTMANN *et al.*, 2002):

1. plantas nas quais os tecidos têm todas as substâncias endógenas, inclusive as auxinas, essenciais à iniciação radicial. São plantas cujas estacas enraizam facilmente;
2. plantas em que os co-fatores estão presentes em concentrações satisfatórias, sendo a auxina limitante. Estas são as plantas cujas estacas enraizam com a aplicação de auxinas exógenas, sendo consideradas plantas relativamente fáceis de enraizar; e
3. plantas que não possuem um ou mais co-fatores, embora possuam ou não abundante auxina endógena. Estacas de plantas nestas condições não respondem, ou respondem muito pouco, à aplicação de auxinas. São consideradas plantas difíceis de enraizar.

Estacas de fácil enraizamento respondem a tratamentos com IAA ou auxinas sintéticas, porém estacas consideradas de difícil enraizamento não respondem ao IAA, respondendo mais às auxinas sintéticas, em particular ao IBA (HAISSIG, 1979). Isso ocorre devido à ação de co-fatores do enraizamento, de natureza fenólica, que interagem com as auxinas endógenas, inibindo a formação de raízes adventícias em estacas. Porém, a resposta fisiológica dos compostos fenólicos não é apenas a inibição do enraizamento mas também o estímulo deste, dependendo de sua composição química. Os compostos fenólicos estão classificados em dois grandes grupos: os monofenóis, que atuam potencializando o sistema IAA-oxidase/peroxidase (IAA-O), inativando a ação da auxina endógena; e os polifenóis, que inibem a destruição do IAA por inativarem o sistema IAA-O (MAYNARD e BASSUK, 1988).

Os compostos fenólicos sintetizados ativamente por tecidos verdes acumulam-se nos órgãos em que os efeitos são manifestados, não sendo degradados por tecidos com baixa atividade fisiológica. Sua síntese é suscetível à intensidade de luz, podendo inibir o crescimento de raízes ou a abertura de gemas (DIETRICH, 1986).

No enraizamento de estacas de *Genista monosperma* Lam., foi constatada redução do enraizamento à medida que aumentou a concentração endógena do monofenol ácido hidroximandélico. Entretanto, a presença do composto polifenol tri-hidroxiisoflavona exerceu influencia positiva no enraizamento desta espécie (CURIR *et al.*, 1992).

Outros compostos que atuam no processo de enraizamento de estacas são retardantes vegetais, normalmente derivados do triazol. O uniconazol é um destes compostos que têm demonstrado propriedades reguladoras de crescimento, afetando o alongamento do caule. Isso se deve ao fato que, logo após sua absorção pela planta, ele é translocado via xilema para as regiões meristemáticas, onde inibe a biossíntese de giberelina, pela inibição da oxidação do caureno a ácido caurenóico (Figura 4). Com isso, o resultado é a supressão do alongamento das células e, conseqüentemente, a redução do crescimento vegetativo (SUMITOMO CHEMICAL CORPORATION Ltd. s/d.; RODRIGUES, ONO e FOLONI, 1998). Essa reação provocada pelo retardante vegetal é importante, uma vez que em concentrações elevadas (10^{-3} M) a giberelina inibe o enraizamento de estacas por bloquear a divisão celular (JARVIS, 1986; FACHINELLO *et al.*, 1995; HARTMANN *et al.*, 2002). Baixas concentrações de derivados do triazol, como o uniconazol, têm estimulado a formação de raízes em espécies ditas fáceis de enraizar. O uniconazol também aumenta a resistência das plantas aos fatores ambientais adversos, como baixas temperaturas, alta salinidade e mudanças do pH no solo (Cathey¹; Tanaka e Yamamoto² citados por RODRIGUES, ONO e FOLONI, 1998).

¹ CATHEY, M. H. Physiology of growth retarding chemicals. **Annual review of plant physiology**, Palo Alto, v.15, p.271-302, 1964.

² TANAKA, S. YAMAMOTO, T. Studies on internode elongation in soybeans plants: IV. Effects of gibberellin biosynthesis inhibitors on internode elongation. **Japanese journal of crop science**, Tokyo, v.60, n.1, p.20-24, 1991.

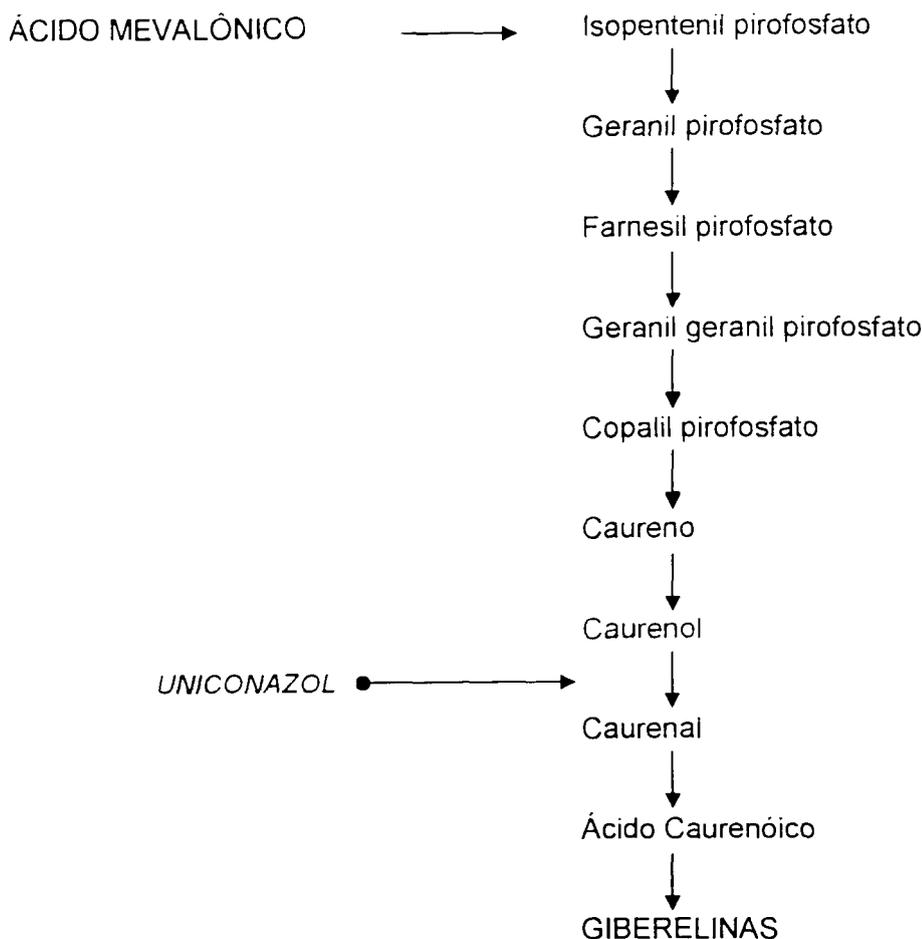


Figura 4 - Mecanismo simplificado da biossíntese de giberelinas a partir do ácido mevalônico (ARTECA, 1996; TAIZ e ZEIGER, 2004)

Em trabalhos realizados com ervilha, o uniconazol reduziu o alongamento e a divisão celular, retardando o crescimento do caule e da folha. Possivelmente, isso se deve ao fato de que plântulas tratadas com uniconazol apresentam grande perda de água se comparadas aquelas não tratadas, sugerindo que o retardante vegetal também pode afetar a transpiração da planta (COSGROVE e SOVONICK-DUNFORD, 1989).

Em investigações referentes ao crescimento de raízes em cultura de tecidos de *Lemna minor* L. constatou-se que a aplicação de 10 μ M de uniconazol ao meio de cultura aumentou o comprimento de raízes em relação aquelas crescidas em meio de cultura sem uniconazol. Também foram realizadas análises morfológicas que revelaram diminuição significativa do número de células com atividade mitótica nas regiões meristemáticas, indicando que a divisão celular foi inibida pelo tratamento com o retardante vegetal. Como

conseqüência houve uma diminuição do diâmetro das raízes (INADA, TOMINAGA e SHIMMEN, 2000).

Em estacas de *Eucalyptus grandis* W. Hill. Ex Maiden., tratamentos com 4000 mg L⁻¹ e 6000 mg L⁻¹ IBA apresentaram porcentagem de enraizamento de 12% e 16% respectivamente; já a associação de 100 mg L⁻¹ de UZ às mesmas concentrações de IBA promoveu 48% e 56% de enraizamento, respectivamente (RIBAS, 1997).

2.5 ÉPOCA DE COLETA

A escolha da época do ano mais adequada para a multiplicação de uma determinada espécie é fundamental para o sucesso da propagação vegetativa via estaquia. Algumas espécies enraízam facilmente independente da época do ano em que as estacas são coletadas. Outras só enraízam satisfatoriamente se as estacas são coletadas em período pré-definido do ano, quando o material vegetal se encontra num determinado estágio de desenvolvimento (BROWSE, 1989; HARTMANN *et al.*, 2002).

Diversos fatores estão relacionados com a época de coleta das estacas, tais como o estágio de desenvolvimento fenológico, grau de lignificação e balanço hormonal. Assim, as estacas estão classificadas em três tipos distintos (HARTMANN *et al.*, 2002):

1. estacas lenhosas, provenientes de ramos lignificados, coletadas no final do outono ou início do inverno, quando estão dormentes;
2. estacas semilenhosas, oriundas de ramos jovens parcialmente lignificados, coletadas no verão, início do outono ou final da primavera; e
3. estacas herbáceas cujos ramos de origem são tenros, suculentos e macios, coletadas na primavera.

Estacas semilenhosas tendem a enraizar com maior facilidade se coletadas durante a primavera ou o verão, enquanto aquelas coletadas durante o inverno podem não apresentar qualquer enraizamento (HARTMANN *et al.*, 2002).

A primavera é uma época adequada para a realização da estaquia em diversas espécies, uma vez que constitui o período vegetativo da planta. A presença de folhas em estacas é um fator que auxilia o enraizamento em muitas espécies, pois as

mesmas são fontes de auxinas e co-fatores do enraizamento, os quais continuam a ser sintetizado durante a permanência das estacas no substrato. Estas folhas funcionam como um laboratório de produção de hormônios e nutrientes (ANTUNES *et al.*; 1996; FERRI, 1997).

Para a estaquia de *Ocotea pretiosa*, a primavera é uma época inadequada, uma vez que estacas provenientes de plantas adultas, mesmo tratadas com IBA, não enraizaram (SILVA, 1984). Estacas de *Salix humboldtiana* Willd. coletadas na primavera, proporcionaram uma taxa de enraizamento semelhante àquelas coletadas no inverno, porém a mortalidade das estacas pós enraizamento na primavera foi alta (60%), o que não ocorreu no inverno (EMBRAPA, 1999). A primavera é a melhor época para a retirada dos ramos para a estaquia de *Prunus salicina* Lindl. quando o nível de triptofano é considerado adequado (ROSSAL, KERSTEN e CONTER, 1997). Para *Platanus acerifolia* a primavera também constituiu a melhor época do ano para a propagação por estacas, confirmada pelo maior comprimento médio de raízes, massa fresca, massa seca total e massa média de raízes, embora no outono o número de estacas enraizadas tenha sido maior (ONO *et al.*, 1994). A primavera também constituiu a melhor época do ano para o enraizamento de estacas de *Vaccinium ashei*, pela maior massa de matéria seca e maior número de estacas enraizadas (HOFFMANN, FACHINELLO e SANTOS, 1995).

Para *Sapium glandulatum*, o verão foi a melhor época para retirada de ramos destinados à estaquia, uma vez que apresentou a maior taxa de enraizamento quando comparada às outras épocas do ano. Esse comportamento pode ser atribuído ao fato que no verão os ramos apresentavam-se em pleno crescimento vegetativo, com grande emissão de gemas e folhas jovens, importantes fontes de auxina endógena (FERREIRA *et al.*, 2001b).

Para *Stevia rebaudiana*, a sobrevivência das estacas foi mantida superior a 50% em todas as épocas do ano; porém no verão foi obtida a maior sobrevivência (93%) e no inverno a maior porcentagem de enraizamento (80%) (CARVALHO e ZAIDAN, 1995). FINARDI (1998) recomenda a época do verão para o enraizamento de estacas semilenhosas e com folhas de pessegueiro. FACHINELLO, MIELKE e NACHTIGAL (1992) trabalhando com estacas de *Feijoa sellowiana* Berg, tratadas com 5000 mg L⁻¹ IBA constataram enraizamento num total de 21,66% e 31,66% no verão e outono, respectivamente.

A umidade é um dos fatores primordiais e de relevante importância para a propagação vegetativa, sendo mais crítica para estacas enfolhadas. A perda de água pelas

folhas pode causar desidratação da estaca e conseqüentemente sua morte antes que se formem as raízes (ZUFFELLATO-RIBAS e RODRIGUES, 2001; HARTMANN *et al.*, 2002). Assim, é recomendado que a pressão de vapor da atmosfera seja semelhante à da água na folha para que a transpiração seja reduzida. Isso é conseguido utilizando-se um sistema de nebulização intermitente que eleve a umidade relativa do ar e forme uma película de água sobre as folhas (KÄMPF, 2000c).

Temperaturas do ar elevadas devem ser evitadas, pois o aumento do metabolismo, embora estimule o desenvolvimento das raízes, pode favorecer a perda de água pelas folhas (ZUFFELLATO-RIBAS e RODRIGUES, 2001). A temperatura ideal para enraizamento de estacas é de 21,1°C a 26,7°C durante o dia e 15,6°C a 21,1°C durante a noite, para a maioria das espécies; entretanto, algumas delas enraizam melhor em temperaturas mais baixas (HARTMANN *et al.*, 2002). A temperatura do substrato também influencia o enraizamento de estacas que pode variar para cada espécie. De forma geral, temperaturas entre 18°C e 24°C, no substrato, exercem efeito estimulante na fase inicial do enraizamento (KÄMPF, 2000b).

A presença de folhas no enraizamento de estacas pode contribuir com a indução de raízes. Os produtos da fotossíntese são translocados para a base da estaca, auxiliando o processo. Normalmente, o fotoperíodo favorável ao crescimento da planta matriz pode influenciar no enraizamento das estacas oriundas dessa planta. Entretanto, essa situação é muito complexa, uma vez que o fotoperíodo também pode induzir o crescimento de brotações (HARTMANN *et al.*, 2002).

2.6 SUBSTRATO

Substratos comerciais são comumente utilizados na produção agrícola como meio de enraizamento e crescimento de plantas. Esses substratos, formados por solo mineral, orgânico ou pela mistura de ambos, entre outros compostos, servem de suporte para os vegetais e regulam a disponibilidade de nutrientes para as raízes (KÄMPF, 2000a).

O tipo de substrato utilizado constitui um dos fatores fundamentais para a obtenção de mudas de alta qualidade. A variabilidade dos constituintes do substrato tem a função de fornecer além dos nutrientes, água e ar para o sistema radicular (SOUZA, LOPES e FONTES, 1995; BARBIZAN *et al.*, 1999).

Normalmente, para o plantio em bandejas é necessária a utilização de substratos uniformes e de boa qualidade quanto às propriedades físicas, químicas e biológicas (GRAZIANO *et al.* 1995). Um substrato ideal para o enraizamento de estacas deve proporcionar elevada porosidade, facilitar a drenagem e ter capacidade de retenção de água suficiente para manter a umidade das estacas (HARTMANN *et al.*, 2002).

O propósito da porosidade do substrato é permitir as trocas gasosas, garantindo um elevado suprimento de oxigênio e a rápida remoção do gás carbônico, facilitando inclusive a atividade dos microrganismos. Outra propriedade física relevante é a densidade, ou relação entre a massa e o volume do substrato (kg m^{-3}). Os materiais utilizados em substratos variam de 100 a 1500 kg m^{-3} , porém, quanto mais alta a densidade, mais difícil o cultivo (SOUZA, LOPES e FONTES, 1995; KÄMPF, 2000a).

A casca de arroz carbonizada, obtida após um processo simples de carbonização, é um substrato muito empregado no enraizamento de estacas, puro ou em misturas com solo mineral, turfa ou compostos orgânicos. Ela tem como características baixa densidade que varia entre 150 e 250 kg m^{-3} , baixa capacidade de retenção de água e boa aeração, uma vez que apresenta porosidade total em torno de 70%. Sua drenagem é rápida e eficiente e o pH próximo da neutralidade (KÄMPF, 2000a).

Outro substrato comercial de uso comum na produção vegetal é a vermiculita. Ela pode ser utilizada pura no enraizamento de estacas, em misturas no cultivo realizado em bandejas e na cobertura de sementeiras. Sua produção se dá a partir da expansão de argila submetida a temperaturas elevadas e, fisicamente, apresenta alta densidade variando entre 650 e 850 kg m^{-3} , alta capacidade de retenção de água e boa aeração (KÄMPF, 2000a).

Na estaquia de erva-mate, a vermiculita foi excelente quando comparada com o substrato areia (EMBRAPA, 1988). Em estacas de *Eucalyptus dunnii* Maiden tratadas com 4000 mg L^{-1} IBA e plantadas em vermiculita, a porcentagem de enraizamento chegou a 100% (COOPER, 1990). A vermiculita é indicada para a estaquia de cróton pela boa capacidade de retenção de água e espaço poroso adequado (TILLMANN *et al.*, 1994).

Comparando a eficiência dos substratos vermiculita e casca de arroz carbonizada no enraizamento de *Salix humboldtiana*, foi evidenciado o fato do substrato utilizado não afetar a porcentagem de enraizamento. No entanto, houve diferenças na quantidade e no comprimento de raízes desenvolvidas em ambos os substratos, sendo a casca de arroz carbonizada superior (EMBRAPA, 1999). O substrato casca de arroz carbonizada destaca-se pela sua eficiência quanto às médias de produção de matéria fresca total de raízes de *Chrysanthemum morifolium* Ramat. (SOUZA, LOPES e FONTES, 1995).

2.7 CROMATOGRAFIA

A cromatografia é uma técnica que permite separar, analisar e identificar componentes de uma mistura de compostos químicos. A amostra é distribuída entre duas fases, uma estacionária e outra móvel, de tal forma que cada um dos componentes envolvidos seja relativamente retido pela fase estacionária. Essa separação é possível devido a uma coluna tubular preenchida com uma substância sólida e porosa finamente dividida, que pode atuar como fase estacionária propriamente dita ou como suporte de uma fase estacionária líquida (McNAIR e ESQUIVEL, 1973).

Vários nomes têm sido utilizados para denominar uma destas técnicas: cromatografia de alta velocidade, de alta pressão, alto desempenho e alta resolução. Porém, o nome mais aceitável e utilizado no Brasil é cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (GUIMARÃES e COLLINS, 1997).

A cromatografia líquida de alta eficiência difere dos métodos clássicos de cromatografia líquida pela resolução e velocidade de análise, reutilização de suas colunas, controle dos parâmetros da separação, automatização da operação e preparação de procedimentos em larga escala. Isso faz da CLAE uma técnica ideal para a separação e identificação de aminoácidos, carboidratos, lipídios, ácidos nucleicos, proteínas e muitas outras moléculas com atividade biológica (GORDON e MACRAE, 1987; CELEGHINI, VILEGAS e LANÇAS, 1999; BOYER, 2000). O diâmetro interno de suas colunas, o tamanho e a uniformidade das partículas que preenchem essas colunas, os processos químicos de preparação de materiais de fase estacionária e o desenvolvimento de processos de enchimentos das colunas, fazem da CLAE um método muito eficaz de separação e identificação de muitos compostos químicos (GUIMARÃES e COLLINS, 1997).

Métodos eletroquímicos de detecção oferecem provavelmente a mais promissora solução para o problema de desenvolvimento de um detector para a CLAE suficientemente sensível e não baseado em absorbância da luz. Eles oferecem vantagens de alta seletividade e alta sensibilidade. Esses detectores eletroquímicos são bons para as modalidades de cromatografia que usam fases móveis aquosas ou fases reversas com

compostos oxidáveis na fase móvel (GORDON e MACRAE, 1987; GUIMARÃES e COLLINS, 1997).

Rizomas de bananeira comum e bananeira anã (*Musa* sp.), incubados por 5 dias em meio de cultura líquido, foram submetidos à quantificação de ácido indol acético pelo método de ELISA (Enzyme linked immune sorbent assay), sendo constatadas médias de 118,1 pmol g⁻¹ e 78,7 pmol g⁻¹ de massa fresca, respectivamente. A separação da amostra foi realizada utilizando a CLAE onde o tempo de retenção para a análise foi muito alto, de aproximadamente 51 minutos (ZAFFARI *et al.*, 2002).

Em trabalhos com orquídea (*Campylocentrum burchellii* Cogniaux) e bromélia (*Tillandsia recurvata* L.) utilizando a CLAE para separação da amostra de IAA constatou-se um tempo de retenção alto, em torno de 51 minutos. Para a quantificação do IAA foi empregado o método de ELISA onde constataram 52,50 µmoles Kg⁻¹ de peso fresco na orquídea e 26,53 µmoles Kg⁻¹ de peso fresco na bromélia (PERES *et al.*, 1997).

A técnica CLAE também foi empregada para a análise de teores de IAA em extratos de hipocótilos de *Lupinus albus* L., constatando-se média em peso fresco de 657 ng g⁻¹ IAA na região apical, 261 ng g⁻¹ IAA na região mediana e 145 ng g⁻¹ IAA na região basal. O tempo de retenção das amostras foi de 27,5 minutos (GUERRERO *et al.*, 2001).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL DE INSTALAÇÃO

O experimento foi conduzido durante os anos de 2001 e 2002, em casa-de-vegetação com sistema de nebulização intermitente de 5 segundos a cada 10 minutos, pertencente à Embrapa Florestas, localizada no município de Colombo – PR, situada 49° 09' W e 25° 19' S, numa altitude de 941 metros (DATUM SAD 69).

3.2 OBTENÇÃO E PREPARO DAS ESTACAS

Para a obtenção das estacas de *Sapium glandulatum*, foram coletados ramos semilenhosos oriundos de plantas matrizes localizadas no Sítio Mocelim, região de Tarimba, município de Bocaiúva do Sul – PR, a 49° 06' 30" W e 25° 13' 00" S, numa altitude de 980 metros e na Vila Rural Itajacuru, município de Colombo – PR, a 49° 15' 00" W e 25° 17' 00" S, numa altitude de 950 metros (PARANÁ CIDADE, 2003). A temperatura da região de coleta encontra-se no Anexo 1. As coletas foram realizadas nas quatro estações do ano (primavera de 2001, verão, outono e inverno de 2002), a fim de se determinar a melhor época para obtenção de estacas. As plantas nativas utilizadas (Figura 5) foram escolhidas aleatoriamente, totalizando aproximadamente 40 genótipos.



Figura 5 – Plantas matrizes de *Sapium glandulatum* no campo, Colombo, PR, 2003.

As coletas foram realizadas no segundo mês de cada estação, no período da manhã, sendo os ramos umedecidos e acondicionados em caixas de polipropileno, até o transporte à Embrapa Florestas. O preparo e instalação dos experimentos se deram no mesmo dia da coleta. As estacas foram confeccionadas com um corte em bisel abaixo da última gema basal e corte reto acima da última gema apical, deixando-as com um comprimento aproximado de 15 cm e diâmetro médio de 0,6 cm, sendo mantidas duas folhas na porção apical com sua área reduzida à metade (Figura 6).



Figura 6 – Estacas de *Sapium glandulatum*, Colombo, PR, 2003.

3.3 TRATAMENTOS DAS ESTACAS

Para a desinfestação, as estacas foram imersas em hipoclorito de sódio a 0,5% por 10 minutos, com posterior lavagem em água corrente por 5 minutos. Em seguida, suas bases foram imersas em benomyl (Benlate® 0,5 g L⁻¹), durante 15 minutos (Figura 7).



Figura 7 – Tratamento das estaca de *Sapium glandulatum* com o fungicida Benlate[®], Colombo, PR, 2003.

Para os tratamentos com fitorreguladores, as bases das estacas foram imersas por 10 segundos, a uma altura de aproximadamente 3 cm, em solução alcoólica (50%) contendo ácido indol butírico (IBA) associado ou não com uniconazol (UZ). Em seguida elas foram plantadas em caixas de polipropileno de 15 cm de largura por 30 cm de comprimento e 12 cm de profundidade, com vermiculita (VER) e casca de arroz carbonizada (CAC) como substratos. Após o plantio, as caixas contendo as estacas foram levadas para casa-de-vegetação, onde permaneceram por 70 dias.

Das combinações entre ácido indol butírico e uniconazol resultaram os seguintes tratamentos nas estacas:

- T₁: 0 mg L⁻¹ IBA
- T₂: 6.000 mg L⁻¹ IBA
- T₃: 12.000 mg L⁻¹ IBA
- T₄: 0 mg L⁻¹ IBA + 100 mg L⁻¹ UZ
- T₅: 6.000 mg L⁻¹ IBA + 100 mg L⁻¹ UZ
- T₆: 12.000 mg L⁻¹ IBA + 100 mg L⁻¹ UZ

O ácido indol butírico P. A. utilizado foi do Laboratório Sigma e o uniconazol P. A. do Laboratório Sumitomo Chemical Corporation Ltd.

3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram testados 12 tratamentos, aplicados em 4 parcelas de 20 estacas por parcela em delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos representavam o arranjo fatorial de 6 tratamentos aplicados às estacas com dois substratos. Cada época do ano foi analisada separadamente, perfazendo um total de 960 estacas por época.

Paralelamente, foi realizada uma segunda análise, num delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial de 3 doses de IBA (0, 6000 e 12000 mg L⁻¹) na presença e ausência de UZ, em cada substrato e em cada época separadamente.

3.5 VARIÁVEIS AVALIADAS

As avaliações foram realizadas após 70 dias da instalação dos experimentos, sendo determinadas as médias das 20 estacas por unidade experimental das seguintes variáveis:

- porcentagem de enraizamento (estacas que apresentavam primórdio radicial a partir de 0,1 cm de comprimento);
- porcentagem de sobrevivência (estacas vivas porém sem raiz); e
- porcentagem de mortalidade.

3.6 ANÁLISES FITOQUÍMICAS

No momento da coleta de ramos de *Sapium glandulatum* foram selecionadas aleatoriamente 10 estacas já confeccionadas, as quais foram acondicionadas em saco plástico e congeladas (0°C) para as análises fitoquímicas. Essas análises foram realizadas no Laboratório de Produtos Naturais, do Departamento de Química, no Setor de Ciências Exatas da Universidade Federal do Paraná, com o propósito de determinar os níveis endógenos das seguintes substâncias:

- monofenol (ácido 4 hidroxibenzóico);
- polifenóis (ácido gálico, ácido caféico e ácido m-cumárico);
- aminoácido L-triptofano; e
- ácido indol acético.

A escolha dos compostos fenólicos utilizados como padrão foi baseada em revisão bibliográfica, onde o composto se fazia presente em alguma espécie de *Sapium* ou atuava em processos bioquímicos das plantas direta ou indiretamente relacionados ao enraizamento (MARTÍNEZ-CAYUELA *et al.*, 1988; VIEITEZ e BALLESTER, 1988; NEERA e ISHIMARU, 1992).

3.6.1 Análise dos compostos fenólicos e do aminoácido triptofano

Para a extração dos compostos fenólicos e do aminoácido triptofano, as estacas foram cortadas em sua totalidade, inclusive as duas metades de folhas, com tesoura de poda em discos de aproximadamente 2 mm de comprimento e transferidas para um gral. Nestes fragmentos foi adicionado nitrogênio líquido para facilitar a trituração manual feita

com um martelo. Em seguida o material foi peneirado em peneira de poliamida com diâmetro de 10 cm e malha 17, e 5 g do pó obtido foram acondicionados em um béquer com capacidade para 50 ml. O extrato foi preparado utilizando 15 ml de metanol com sonicação por 15 minutos. O solvente foi removido com filtro de papel; mais metanol foi adicionado e o procedimento foi repetido por duas vezes. Os extratos foram combinados em um erlenmeyer e o volume foi completado para 50 ml com o mesmo solvente.

Uma alíquota de 1 ml do extrato foi diluída em 1 ml de água Mili-Q e deixada em repouso por 15 horas, sendo posteriormente centrifugada em 5000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi filtrado em uma coluna de sílica PC-18 (300 mg), previamente condicionada com 2 ml de metanol e 2 ml de água Mili-Q. A eluição foi feita com 1,5 ml de metanol/água (9:1). Para preparar essa amostra foi utilizado o sistema de preparação de amostras a vácuo da marca Varian modelo Vac Elut 20.

A análise foi realizada utilizando o sistema CLAE analítico da marca Varian com bomba quaternária modelo 9012Q, detector de ultravioleta (UV) fotodiodo modelo 9065 com comprimento de onda de 282 nanômetros (nm) e injetor automático modelo AI200. A fase móvel utilizada foi um gradiente metanol/água (35:65 de 0 a 5 min; 40:60 a 90:10 de 5 a 10 min), com fluxo de 1 ml/minuto.

Os padrões disponíveis utilizados: ácido 4 hidroxibenzóico, ácido gálico, ácido caféico, ácido m-cumárico e o aminoácido L-triptofano, foram dissolvidos em metanol.

3.6.2 Análise do ácido indol acético (método adaptado de OLSSON *et al.*, 1996)

Para a extração do ácido indol acético as estacas foram cortadas em sua totalidade, inclusive as duas metades de folhas, com tesoura de poda em discos de aproximadamente 2 mm de comprimento e transferidas para um gral. Nos fragmentos foi adicionado nitrogênio líquido para facilitar a trituração feita com um martelo. Em seguida o material foi peneirado em peneira de poliamida com diâmetro de 10 cm e malha 17 e, 1,0 g do pó obtido foi acondicionado em um béquer com capacidade para 50 ml.

A extração foi realizada utilizando 10 ml de tampão fosfato 50 mM, pH 8,0 contendo 1,10 mg de butil-hidroxitolueno (BHT) (5 μ M), com sonicação por 15 minutos. Após repouso

de 15 horas na geladeira. o solvente foi removido a vácuo com papel filtro e o volume ajustado para 20 ml com o mesmo solvente.

Uma coluna de sílica PC-18 (500 mg) foi condicionada com 4 ml de etanol (2 x 2), 2 ml de água Mili-Q e 2 ml do tampão fosfato com o pH ajustado para 2.5. Posteriormente, uma alíquota de 5 ml do extrato teve o pH ajustado para 2,5 com ácido fosfórico, sendo adicionada à coluna e deixada percolar a uma vazão de 1 a 5 ml por hora. A coluna foi lavada com 2 ml de água Mili-Q e o analito eluído com 1 ml de metanol. O metanol foi evaporado sob nitrogênio e o resíduo redissolvido com 0,1 ml de água/metanol (9:1). Para a preparação dessa amostra foi utilizado um sistema de preparação de amostras a vácuo marca Varian modelo Vac Elut 20.

A análise foi realizada utilizando um sistema CLAE analítico marca Varian com bomba quaternária modelo 9012Q, detector eletroquímico modelo 9080 e injetor automático modelo AI200. A fase móvel utilizada foi preparada com 7,16 g de difosfato ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$), 4,20 g de ácido cítrico, 40 mg de EDTA, 550 mg de octanosulfonato de sódio, 800 ml de água Mili-Q e 100 ml de metanol. O pH foi ajustado para 2,64, sendo adicionado 3% de acetonitrila. Finalmente o pH foi ajustado para 4,70 com KOH. O fluxo foi de 1 ml/minuto e a detecção com temperatura de 29°C.

Com o propósito de testar a eficiência do método foi realizado um experimento de extração de IAA adicionando 0,4 µg de IAA (200 µl de uma solução 2 µg/ml) a 1,0 g do pó das estacas e procedido conforme metodologia adaptada de OLSSON *et al.* (1996) anteriormente descrita.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variáveis analisadas foram agrupadas de acordo com a época de instalação, obedecendo a seqüência de enraizamento, sobrevivência e mortalidade das estacas em cada substrato. Os resultados estatísticos apresentados são os da análise de variância e do teste de Tukey para comparação das médias. As variáveis que apresentaram grande número de valores nulos não foram analisadas estatisticamente, sendo apresentadas somente as médias obtidas.

4.1 PRIMAVERA

4.1.1 Interações entre substratos utilizados e tratamentos das estacas

Os resultados da análise de variância (2 substratos x 6 tratamentos das estacas) para o número de estacas de *Sapium glandulatum* enraizadas, vivas e mortas são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Resultados da análise de variância para o número de estacas de *Sapium glandulatum* enraizadas, vivas e mortas, coletadas na primavera de 2001.

Fator de Variação	G.L.	QUADRADO MÉDIO		
		Enraizadas ¹	Vivas ¹	Mortas
Substrato	1	0,502*	0,026 ^{ns}	2,521 ^{ns}
Tratamentos	5	0,239 ^{ns}	0,169 ^{ns}	4,071 ^{ns}
Substrato x Tratamentos	5	0,142 ^{ns}	0,070 ^{ns}	2,671 ^{ns}
Erro	36	0,097	0,128	1,771
Coeficiente de Variação (%)		32,10	38,45	7,06
Teste de Bartlett (χ^2)		18,578 ^{ns}	16,583 ^{ns}	18,954 ^{ns}

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

¹ dados transformados por raiz quadrada ($x + 0.5$)

A análise de variância (Tabela 1) revelou que a interação dos fatores substratos e tratamentos não foi estatisticamente significativa para ambas as variáveis, indicando que estes são independentes.

Entre os substratos, a análise de variância revelou que há diferenças estatísticas significativas para a variável porcentagem de estacas enraizadas, não sendo significativo para as demais variáveis (Tabela 1).

Tabela 2 – Resultados da comparação dos substratos para porcentagem de estacas de *Sapium glandulatum* enraizadas, vivas e mortas, pelo teste de Tukey, coletadas na primavera de 2001.

SUBSTRATOS	ESTACAS		
	Enraizadas ¹ (%)	Vivas ¹ (%)	Mortas (%)
Vermiculita	1,7 B	2,9 A	95,4 A
Casca de arroz carbonizada	4,2 A	2,7 A	93,1 A

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

¹ dados transformados por raiz quadrada ($x + 0,5$).

O teste de comparação de médias dos substratos (Tabela 2) revela a superioridade da casca de arroz carbonizada, com 4,2% de estacas enraizadas, em relação à vermiculita com 1,7%. No entanto, esta superioridade estatística é muito baixa para fins fisiológicos, fazendo com que a técnica não seja recomendada para o emprego comercial.

A casca de arroz carbonizada foi eficiente quanto à produção de massa fresca total de raízes em *Chrysanthemum morifolium* (SOUZA, LOPES e FONTES, 1995). Já para *Codiaeum variegatum* L. o substrato indicado é a vermiculita, pela boa capacidade de retenção de água e espaço poroso total. Na estaquia de *Salix humboldtiana* não foi constatada diferença na porcentagem de enraizamento para estacas plantadas na vermiculita e na casca de arroz carbonizada (EMBRAPA, 1999). Embora na maioria dos trabalhos relacionados à estaquia o meio de enraizamento recomendado seja a vermiculita, esse substrato pode se tornar muito compacto inviabilizando a propagação. Possivelmente, o melhor desempenho da casca de arroz carbonizada em relação a vermiculita é devido a sua baixa densidade e baixa capacidade de retenção de água, além da boa aeração.

Os altos índices de mortalidade (Tabela 2) podem estar relacionados com a abscisão foliar ocorrida nas estacas, uma vez que após quinze dias da instalação do experimento basicamente não havia mais folhas. Outra hipótese para a mortalidade é a sua

vulnerabilidade à água, tendo em vista que as estacas morriam da base para o ápice, sendo mais demorada a morte na parte da estaca que ficava acima do substrato e, portanto, com maior aeração e menor quantidade de água.

Elevadas porcentagens de mortalidade (86%) foram encontradas na estaquia de *Sapium glandulatum* realizada na primavera de 1999, independentemente dos tratamentos utilizados (FERREIRA *et al.*, 2001b). Porcentagens altas de mortalidade também foram constatadas na propagação de araçazeiro com até 100% de estacas mortas de acordo com o substrato utilizado (HOFFMANN *et al.*, 1994).

4.1.2 Interações entre uniconazol e ácido indol butírico

Os resultados da análise de variância (2 doses de UZ x 3 doses de IBA) para o número de estacas de *Sapium glandulatum* enraizadas, vivas e mortas são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Resultados da análise de variância para o número de estacas de *Sapium glandulatum* enraizadas, vivas e mortas coletadas na primavera de 2001 e plantadas nos substratos vermiculita e casca de arroz carbonizada.

Fator de Variação	G.L.	QUADRADO MÉDIO					
		Vermiculita			Casca de arroz carbonizada		
		Enraizadas ¹	Vivas ¹	Mortas	Enraizadas ¹	Vivas ¹	Mortas
UZ	1	0,043 ^{ns}	0,043 ^{ns}	0,000 ^{ns}	1,005*	0,308 ^{ns}	18,375*
IBA	2	0,015 ^{ns}	0,199 ^{ns}	2,042 ^{ns}	0,326 ^{ns}	0,307 ^{ns}	3,500 ^{ns}
UZ x IBA	5	0,100 ^{ns}	0,011 ^{ns}	0,125 ^{ns}	0,036 ^{ns}	0,059 ^{ns}	2,000 ^{ns}
Erro	36	0,789	0,096	2,083	0,149	0,161	1,458
Coeficiente de Variação (%)		24,13	32,37	7,56	36,01	44,13	6,48
Teste de Bartlett (χ^2)		10,464 ^{ns}	4,701 ^{ns}	9,213 ^{ns}	9,624 ^{ns}	9,667 ^{ns}	9,081 ^{ns}

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade

¹ dados transformados por raiz quadrada ($x + 0,5$)

A interação dos fatores UZ e IBA não foi estatisticamente significativa para todas as variáveis, nos substratos vermiculita e casca de arroz carbonizada, indicando que os fatores são independentes (Tabela 3).

O fator UZ foi estatisticamente significativo para as variáveis enraizamento e mortalidade no substrato casca de arroz carbonizada, não sendo significativo para a variável sobrevivência desse substrato e para todas as variáveis do substrato vermiculita (Tabela 3).

A aplicação de IBA não foi estatisticamente significativa em todas as variáveis nos dois substratos estudados (Tabela 3).

O teste de comparação de médias (Tabela 4) revelou que houve diferenças estatisticamente significativas para as variáveis estacas enraizadas e estacas mortas no substrato casca de arroz carbonizada. O uso do UZ aumentou de 1,7% para 6,7% a porcentagem de enraizamento das estacas de *Sapium glandulatum*.

Tabela 4 – Resultados da comparação das médias para porcentagem de estacas de *Sapium glandulatum* enraizadas, vivas e mortas entre os tratamentos sem e com uniconazol (UZ), pelo teste de Tukey, coletadas na primavera de 2001.

TRATAMENTOS	SUBSTRATOS					
	Vermiculita			Casca de arroz carbonizada		
	Enraizadas [†] (%)	Vivas [†] (%)	Mortas (%)	Enraizadas [†] (%)	Vivas [†] (%)	Mortas (%)
Sem uniconazol	1,3 A	3,3 A	95,4 A	1,7 B	0,8 A	97,5 A
Com uniconazol	2,1 A	2,5 A	94,3 A	6,7 A	4,5 A	88,7 B

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

[†] dados transformados por raiz quadrada ($x + 0.5$)

Embora a interação entre tratamento e UZ não tenha sido estatisticamente significativa, comparando as médias dos tratamentos sem UZ (T_1 , T_2 , e T_3) com as médias dos tratamentos com UZ (T_4 , T_5 , e T_6), nota-se uma tendência para melhor porcentagem de estacas enraizadas nos tratamentos que apresentavam o UZ (Tabela 5).

O efeito positivo do UZ no enraizamento de estacas já havia sido observado por RIBAS (1997) quando aplicou 6000 mg L⁻¹ IBA e 6000 mg L⁻¹ IBA associado a 100 mg L⁻¹ UZ em estacas de *Eucalyptus grandis*, elevando de 16% para 56% a porcentagem de estacas enraizadas, respectivamente. Esse efeito do UZ sobre o enraizamento de estacas se deve ao fato que, após ser absorvido pela planta, ele é translocado para as regiões meristemáticas onde inibe a biossíntese de giberelina, que por sua vez impede o enraizamento de estacas por bloquear a divisão celular (JARVIS, 1986; FACHINELLO *et al.*, 1995; HARTMANN *et al.*, 2002).

Quanto à variável estacas mortas, a média dos tratamentos sem UZ no substrato casca de arroz carbonizada foi estatisticamente superior (97,5%) à média dos tratamentos

com UZ (88,7%). Embora não tenha havido diferença estatisticamente significativa para as médias da variável estacas vivas, nota-se uma tendência para a maior sobrevivência nos tratamentos com UZ (Tabela 4).

Os dados apresentados sugerem que a aplicação do UZ pode influenciar positivamente na sobrevivência das estacas de *Sapium glandulatum*. Uma das hipóteses sobre a influência deste inibidor da síntese de giberelina na diminuição da mortalidade das estacas é que o UZ atrasa a formação de novas folhas, que consomem as reservas da estaca antes que esta forme as raízes. ALMEIDA e PEREIRA (1996) testaram o efeito do paclobutrazol no desenvolvimento vegetativo de girassol e observaram que este inibidor da síntese de giberelina atrasa o desenvolvimento dos primórdios foliares. Outra hipótese consiste no fato que substâncias derivadas de triazol podem aumentar a resistência das plantas a fatores ambientais adversos.

A análise de variância (Tabela 1) revelou que o fator tratamentos não foi estatisticamente significativo em todas as variáveis estudadas. Assim, os resultados obtidos para porcentagem de estacas de *Sapium glandulatum* enraizadas, vivas e mortas coletadas na primavera de 2001 são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Resultados da comparação das médias obtidas para porcentagem de estacas de *Sapium glandulatum* enraizadas, vivas e mortas entre os tratamentos e nos substratos vermiculita e casca de arroz carbonizada, coletadas na primavera de 2001.

TRATAMENTOS	SUBSTRATOS					
	Vermiculita			Casca de arroz carbonizada		
	Enraizadas (%)	Vivas (%)	Mortas (%)	Enraizadas (%)	Vivas (%)	Mortas (%)
T ₁ : 0 mg L ⁻¹ IBA	2,5	5,0	92,5	0,0	1,3	98,7
T ₂ : 6000 mg L ⁻¹ IBA	1,3	3,7	95,0	3,8	1,2	95,0
T ₃ : 12000 mg L ⁻¹ IBA	0,0	1,3	98,7	1,3	0,0	98,7
T ₄ : 0 mg L ⁻¹ IBA + 100 mg L ⁻¹ UZ	1,3	5,0	93,7	5,0	10,0	85,0
T ₅ : 6000 mg L ⁻¹ IBA + 100 mg L ⁻¹ UZ	2,5	2,5	95,0	11,3	2,5	86,2
T ₆ : 12000 mg L ⁻¹ IBA + 100 mg L ⁻¹ UZ	2,5	0,0	97,5	3,8	1,2	95,0
Média Geral (%)	1,7	2,9	95,4	4,2	2,7	93,1

A maior porcentagem de enraizamento de *Sapium glandulatum* no substrato vermiculita foi 2,5% (T₁, T₅ e T₆) (Anexo 2). FERREIRA *et al.* (2001b) trabalhando com estacas de *Sapium glandulatum* na mesma época do ano, tratadas com 2000 mg L⁻¹ e 4000 mg L⁻¹ IBA e utilizando vermiculita como substrato, não constataram enraizamento. Esses

dados sugerem que a pequena diferença encontrada entre os experimentos possivelmente está relacionada à aplicação do inibidor da síntese de giberelina e não ao aumento da concentração de IBA, uma vez que em T₂ e T₃ o enraizamento foi de 1,3% e 0,0%, respectivamente.

Para o substrato casca de arroz carbonizada, as melhores respostas de enraizamento (Figura 8) foram obtidas com os tratamentos T₅ (11,3%) e T₄ (5,0%) (Anexo 2).



Figura 8 – Estacas enraizadas de *Sapium glandulatum*, Colombo, PR, 2003.

Considerando a dose do IBA, é conclusivo que 6000 mg L⁻¹ foi a melhor dose para o enraizamento das estacas de *Sapium glandulatum*, já que os tratamentos com 12000 mg L⁻¹ IBA (T₃ e T₆) apresentaram 1,3% e 3,8% das estacas enraizadas, respectivamente (Tabela 5). A semelhança de enraizamento que há entre os tratamentos T₂ e T₃ (3,8%) possivelmente se deve ao efeito do UZ e não à diferença da concentração de IBA.

O aumento da concentração de auxina exógena aplicada em estacas provoca efeito estimulador de raízes até um máximo, a partir do qual qualquer acréscimo de auxinas tem efeito inibitório (FACHINELLO *et al.*, 1995). Porém, a concentração de auxina que pode levar à fitotoxicidade é variável de acordo com a espécie utilizada. Assim, há uma possibilidade de que 12000 mg L⁻¹ IBA tenha agido de maneira tóxica nas estacas de

Sapium glandulatum, como ocorrido nas estacas de araucária (IRITANI, 1981) e de duas espécies de canela (SILVA, 1984) tratadas com 4000 mg L⁻¹ IBA.

4.2 VERÃO, OUTONO E INVERNO

O grande número de valores nulos inviabilizou a realização da análise estatística referente aos experimentos oriundos de estacas coletadas no verão, outono e inverno de 2002, sendo apresentadas somente as médias dos resultados obtidos.

4.2.1 Verão

Os resultados para porcentagem de estacas de *Sapium glandulatum* vivas e mortas coletadas no verão, outono e inverno de 2002 estão apresentados nas Tabelas 6, 7 e 8, respectivamente.

Tabela 6 – Resultados das médias obtidas para porcentagem de estacas de *Sapium glandulatum* vivas e mortas entre os tratamentos nos substratos vermiculita e casca de arroz carbonizada, coletadas no verão de 2002.

TRATAMENTOS	SUBSTRATOS			
	Vermiculita		Casca de arroz carbonizada	
	Vivas (%)	Mortas (%)	Vivas (%)	Mortas (%)
T ₁ : 0 mg L ⁻¹ IBA	0,0	100,0	0,0	100,0
T ₂ : 6000 mg L ⁻¹ IBA	2,5	97,5	0,0	100,0
T ₃ : 12000 mg L ⁻¹ IBA	0,0	100,0	0,0	100,0
T ₄ : 0 mg L ⁻¹ IBA + 100 mg L ⁻¹ UZ	0,0	100,0	0,0	100,0
T ₅ : 6000 mg L ⁻¹ IBA + 100 mg L ⁻¹ UZ	0,0	100,0	0,0	100,0
T ₆ : 12000 mg L ⁻¹ IBA + 100 mg L ⁻¹ UZ	0,0	100,0	0,0	100,0
Média Geral (%)	0,4	99,6	0,0	100,0

Os resultados das médias dos tratamentos apresentados na Tabela 6 revelam porcentagens de mortalidade próximas a 100% na vermiculita e 100% na casca de arroz carbonizada, independente do tratamento utilizado. Além da hipótese relacionada com a

abscisão foliar das estacas. outro fator que pode ter agravado para o alto índice de mortalidade é a elevação da temperatura durante o verão. uma vez que não havia controle térmico dentro da casa-de-vegetação utilizada.

Para a estaquia de figueira (*Ficus carica* L.) e araçazeiro (*Psidium catteleyanum* Sabine), o verão também se mostrou uma época inadequada devido à mortalidade das estacas (100%), quando plantadas em cinza de casca de arroz. A alta mortalidade é decorrência do baixo grau de lignificação dos tecidos, aliado à elevada temperatura da época em que o material foi retirado (HOFFMANN *et al.*, 1994). Por outro lado, estacas de *Araucaria angustifolia* têm elevadas porcentagens de sobrevivência, superiores a 81%, em experimentos conduzidos no verão, assim como em estacas de *Ilex paraguariensis*, onde a sobrevivência foi superior a 72% (IRITANI, SOARES e GOMES, 1986a; IRITANI, SOARES e GOMES, 1986b).

Elevada mortalidade de estacas também foi detectada em *Sapium glandulatum* na época do verão, variando de 58% a 78% de acordo com o tratamento utilizado. No entanto, esta época é recomendada para a coleta do material, uma vez que foi a mais promissora para o sucesso do enraizamento (28%) (FERREIRA *et al.*, 2001a).

4.2.2 Outono e inverno

Nos experimentos de estaquia de *Sapium glandulatum* realizados nas épocas do outono e inverno de 2002 não houve enraizamento de estacas e as porcentagens de mortalidade foram altas. No outono foram constatadas médias gerais de 95,0% de estacas mortas na vermiculita e 97,7% na casca de arroz carbonizada (Tabela 7). No inverno, as médias gerais foram de 92,7% e 88,7% de estacas mortas, respectivamente em vermiculita e casca de arroz carbonizada (Tabela 8).

Tabela 7 – Resultados das médias obtidas para porcentagem de estacas de *Sapium glandulatum* vivas e mortas entre os tratamentos nos substratos vermiculita e casca de arroz carbonizada, coletadas no outono de 2002.

TRATAMENTOS	SUBSTRATOS			
	Vermiculita		Casca de arroz carbonizada	
	Vivas (%)	Mortas (%)	Vivas (%)	Mortas (%)
T ₁ : 0 mg L ⁻¹ IBA	2,5	97,5	6,3	93,7
T ₂ : 6000 mg L ⁻¹ IBA	8,8	91,7	0,0	100,0
T ₃ : 12000 mg L ⁻¹ IBA	5,0	95,0	6,3	93,7
T ₄ : 0 mg L ⁻¹ IBA + 100 mg L ⁻¹ UZ	10,0	90,0	1,3	98,7
T ₅ : 6000 mg L ⁻¹ IBA + 100 mg L ⁻¹ UZ	2,5	97,5	0,0	100,0
T ₆ : 12000 mg L ⁻¹ IBA + 100 mg L ⁻¹ UZ	1,3	98,7	0,0	100,0
Média Geral (%)	5,0	95,0	2,3	97,7

Embora a mortalidade das estacas de *Sapium glandulatum* tenha sido menor quando coletadas no inverno (Tabela 8), esses valores são superiores aos encontrados por RIBAS (1997) em estacas de *Eucalyptus grandis*, que constatou média de 4,6% de mortalidade nessa mesma época. Para a estaquia de *Stevia rebaudiana* a porcentagem de mortalidade foi mantida inferior a 50%, independente da época do ano (CARVALHO e ZAIDAN, 1995).

Tabela 8 – Resultados das médias obtidas para porcentagem de estacas de *Sapium glandulatum* vivas e mortas entre os tratamentos nos substratos vermiculita e casca de arroz carbonizada, coletadas no inverno de 2002.

TRATAMENTOS	SUBSTRATOS			
	Vermiculita		Casca de arroz carbonizada	
	Vivas (%)	Mortas (%)	Vivas (%)	Mortas (%)
T ₁ : 0 mg L ⁻¹ IBA	15,0	85,0	22,5	77,5
T ₂ : 6000 mg L ⁻¹ IBA	3,8	96,2	1,3	98,7
T ₃ : 12000 mg L ⁻¹ IBA	7,5	92,5	10,0	90,0
T ₄ : 0 mg L ⁻¹ IBA + 100 mg L ⁻¹ UZ	12,5	87,5	12,5	87,5
T ₅ : 6000 mg L ⁻¹ IBA + 100 mg L ⁻¹ UZ	3,8	96,2	7,5	92,5
T ₆ : 12000 mg L ⁻¹ IBA + 100 mg L ⁻¹ UZ	1,3	98,7	13,8	86,2
Média Geral (%)	7,3	92,7	11,3	88,7

4.3 COMENTÁRIOS SOBRE AS QUATRO ÉPOCAS ESTUDADAS

Estudos anatômicos em estacas de *Sapium glandulatum* comprovaram que não há barreiras físicas que dificultem a passagem dos primórdios radiciais (FERREIRA *et al.*, 2001b). Assim, o baixo enraizamento e a alta mortalidade das estacas desta espécie em todas as épocas estudadas pode ser consequência de barreiras químicas que estejam interferindo no processo de enraizamento da planta. Essas barreiras químicas podem ser originárias dos tecidos da planta ou do látex. A composição química desse látex é desconhecida, porém sabe-se que há propriedades tóxicas que provocam irritações na pele humana. Além disso, o látex pode influenciar no processo de enraizamento das estacas caso constitua uma obstrução física que impeça a absorção dos fitorreguladores.

Comparando a média da porcentagem de sobrevivência das estacas de *Sapium glandulatum* coletadas no inverno (Tabela 8) com as demais épocas estudadas (Tabela 5, 6 e 7), observou-se que no inverno houve maior sobrevivência (Anexo 3). Também foi observada, no inverno, a permanência das folhas nas estacas por um período maior que em outras épocas, assim como a mortalidade dessas estacas iniciou-se no quadragésimo dia, enquanto nas outras épocas já se encontravam estacas mortas a partir do vigésimo-quinto dia. Não foi verificada a formação de calos nas estacas de *Sapium glandulatum* em todas as épocas estudadas.

FERREIRA *et al.* (2001b) também constataram que no inverno a sobrevivência das estacas de *Sapium glandulatum* foi maior. Os autores também não constataram enraizamento das estacas durante o inverno.

Espécies caducifólias apresentam dormência de gemas durante o inverno, o que diminui o consumo de suas reservas (HARTMANN *et al.*, 2002). Possivelmente, a maior porcentagem de sobrevivência das estacas de *Sapium glandulatum* nessa época se deu em razão da dormência das gemas, já que a espécie é caducifólia e se encontrava em pleno repouso vegetativo.

O problema para a propagação vegetativa via estaquia de *Sapium glandulatum* parece estar relacionado com a manutenção das estacas na casa-de-vegetação durante o

período de enraizamento. A alta mortalidade das estacas constatada nas quatro épocas do ano estudadas (Anexo 4) pode estar relacionada com a abscisão das folhas deixadas nas estacas no momento de sua confecção, uma vez que elas funcionam como um laboratório de produção de hormônios. A queda precoce das folhas, além de prejudicar o enraizamento, pode comprometer a sobrevivência das estacas pela escassez de açúcares, proteínas e hormônios, substratos essenciais para as reações metabólicas das estacas (ANTUNES *et al.*, 1996; FERRI, 1997; FERREIRA *et al.*, 2001b).

4.4 ANÁLISES FITOQUÍMICAS

Em cada época de instalação do experimento foram preparados extratos das estacas coletadas, conforme descrito nos itens 3.6.1 (análise dos compostos fenólicos e do aminoácido triptofano) e 3.6.2 (análise do ácido indol acético).

Durante os anos de 2002 e 2003 vários ensaios foram realizados com os extratos das estacas de *Sapium glandulatum*. Os resultados apresentados são referentes às análises fitoquímicas correspondentes ao material coletado na primavera de 2001, sem delineamento experimental que envolva tratamento e repetição. Os cromatogramas dos padrões serão sucedidos pelos cromatogramas das respectivas amostras.

Após este período foi verificado que a metodologia de análise necessitava ser aperfeiçoada, sobretudo na purificação do extrato, fato que inviabilizou a realização das análises com o material coletado nas épocas do verão, outono e inverno de 2002.

4.4.1 Compostos fenólicos e triptofano

Os resultados referentes aos padrões utilizados são apresentados na Figura 9, com os picos na ordem crescente de tempo de retenção iniciando pelo ácido gálico seguido do triptofano, ácido hidroxibenzóico, ácido caféico e ácido m-cumárico.

No cromatograma da amostra de *Sapium glandulatum* há um pico bem separado em aproximadamente 9 minutos cujo tempo de retenção é igual ao do padrão, sugerindo que se trata do ácido hidroxibenzóico. O pico referente ao aminoácido triptofano não aparece nesse cromatograma, possivelmente por não estar presente na amostra ou possuir quantidades inferiores à sensibilidade mínima do detector. Nos tempos de retenção próximos aos 5 minutos e após 10 minutos do cromatograma, onde deveriam aparecer os polifenóis ácido gálico, ácido caféico e ácido m-cumárico, há vários picos juntos que podem ou não ser os compostos pesquisados (Figura 10).

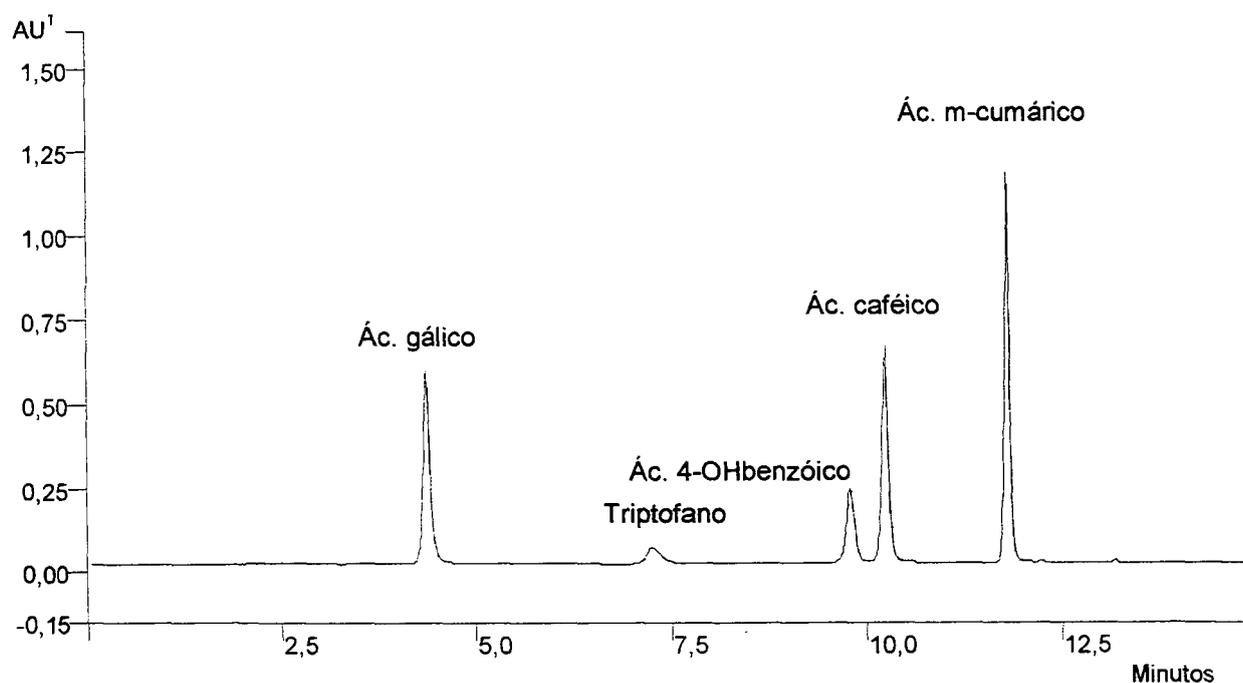


Figura 9 – Cromatograma dos padrões dos compostos fenólicos (ácido gálico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido caféico e ácido m-cumárico) e do aminoácido triptofano

¹ Unidade de absorção.

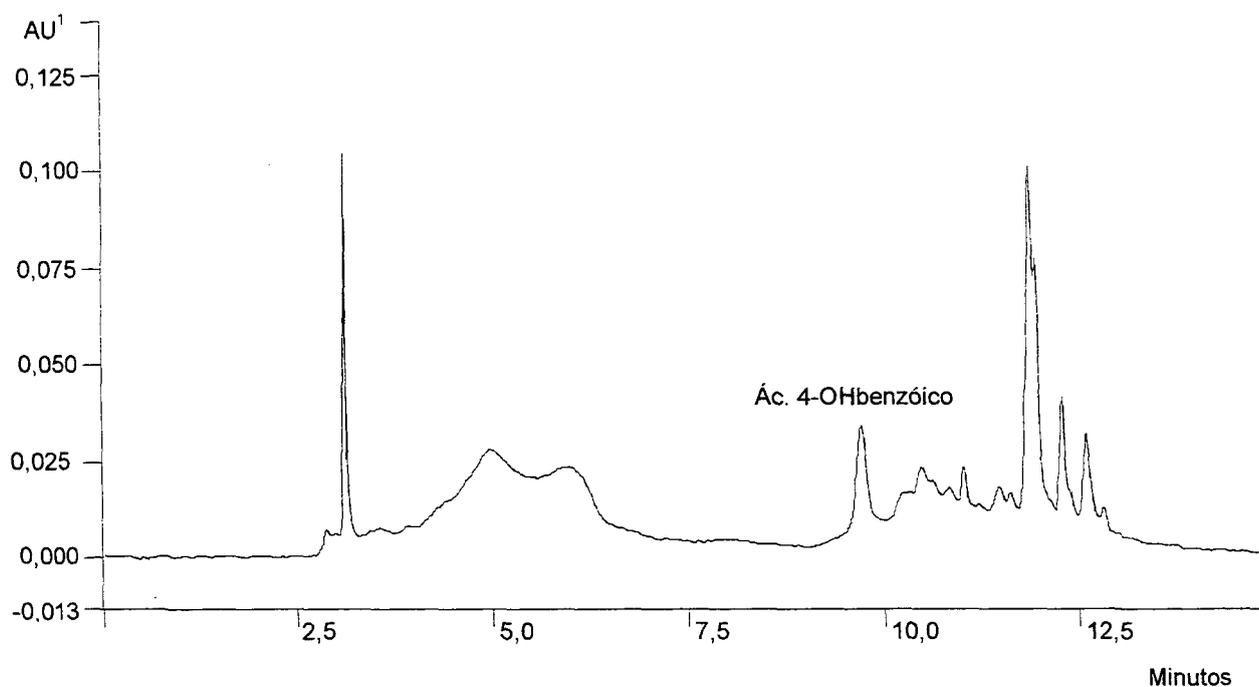


Figura 10 – Cromatograma da amostra de *Sapium glandulatum* evidenciando o suposto ácido hidroxibenzoico (primavera de 2001)

¹ Unidade de absorção.

Pesquisas que visam à identificação de compostos fenólicos não devem ser concluídas com base exclusivamente no cromatograma da análise. Na Figura 10 há uma confirmação da existência do ácido hidroxibenzóico; entretanto uma análise do espectro no ultravioleta pode contradizer esta afirmação. Observando o espectro em UV referente ao padrão do ácido hidroxibenzóico (Figura 11) nota-se que o pico aparece com o comprimento de onda de 254,0 nanômetros. Já no espectro em UV realizado com a amostra (Figura 12) fica constatado que o composto em questão não é o ácido hidroxibenzóico, uma vez que o comprimento de onda é de 289,5 nanômetros diferindo do padrão.

Essa substância, embora não seja o ácido hidroxibenzóico pode ser um composto similar pertencente ao grupo dos monofenóis que atuam potencializando o sistema IAA-oxidase/peroxidase (IAA-O), que inativa a ação da auxina endógena e como resposta fisiológica inibe o enraizamento das estacas (MAYNARD e BASSUK, 1988). Isso foi comprovado por CURIR *et al.* (1992) quando pesquisaram o enraizamento de estacas de *Genista monosperma* e constataram uma redução do enraizamento à medida que aumentou a concentração do monofenol ácido hidroximandélico. Já os polifenóis são substâncias que favorecem o enraizamento de estacas uma vez que impedem a destruição do IAA por inativarem o sistema IAA-O (MAYNARD e BASSUK, 1988).

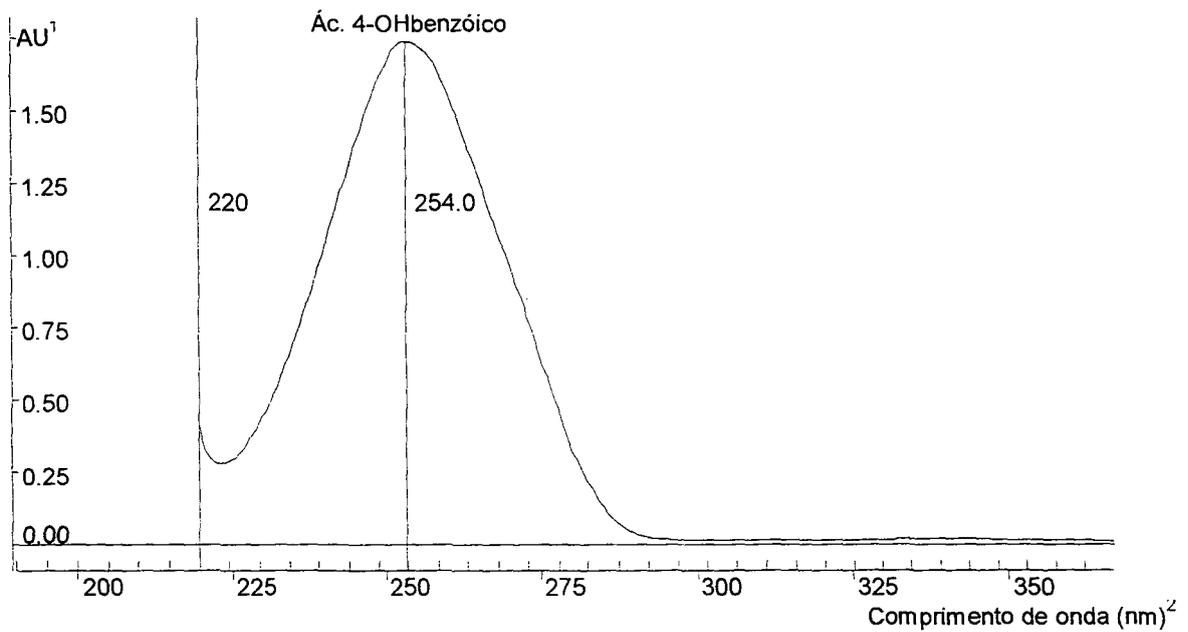


Figura 11 – Espectro no ultravioleta do padrão de ácido hidroxibenzoico, evidenciando o pico com 254,0 nm

¹ Unidade de absorção.

² Nanômetro.

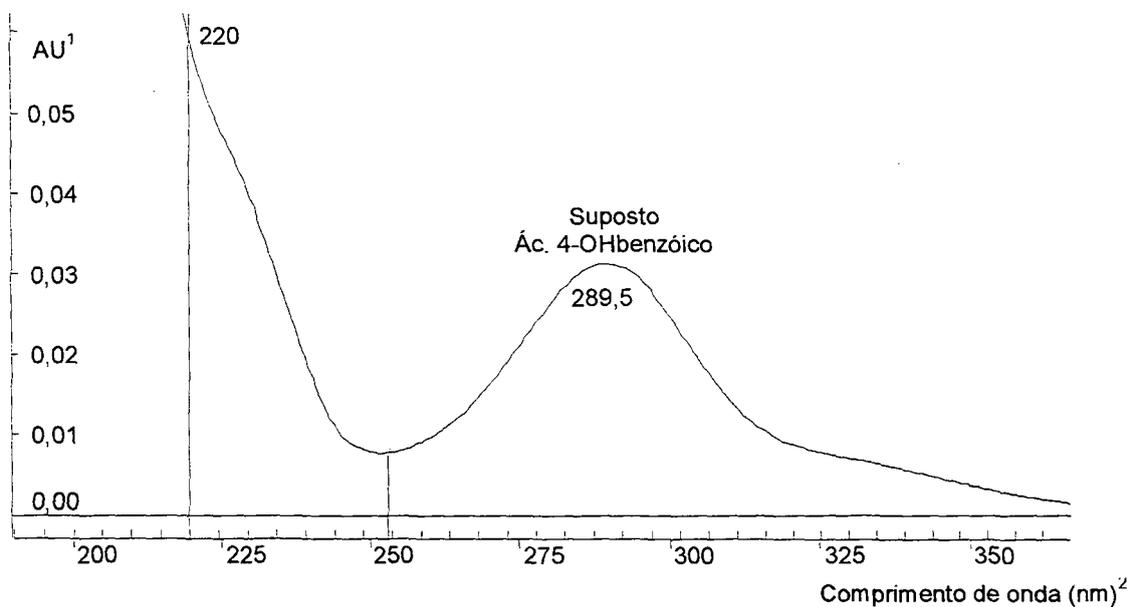


Figura 12 – Espectro no ultravioleta da amostra de *Sapium glandulatum* referente ao suposto ácido hidroxibenzoico, evidenciando o pico com 289,5 nm (primavera de 2001)

¹ Unidade de absorção.

² Nanômetro.

4.4.2 Ácido indol acético

O resultado referente ao padrão utilizado é apresentado na Figura 13, com o pico do ácido indol acético no tempo de retenção próximo aos 20 minutos.

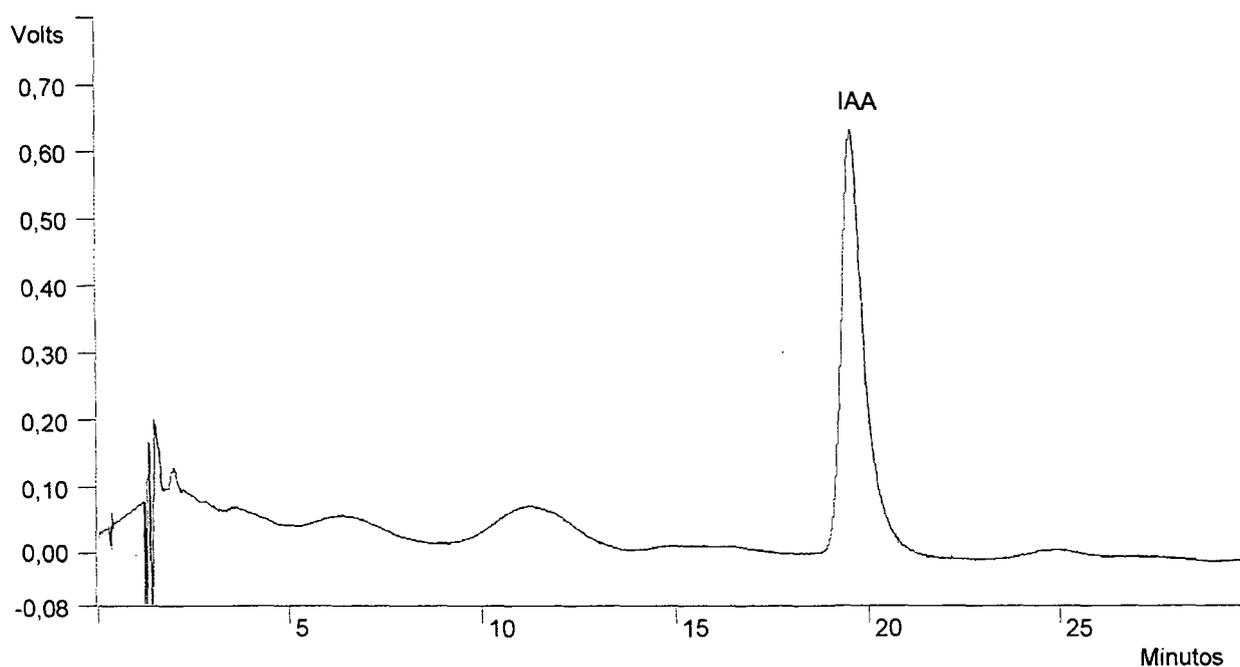


Figura 13 – Cromatograma do padrão de ácido indol acético (IAA)

Os cromatogramas obtidos por detecção eletroquímica da amostra de *Sapium glandulatum* (Figuras 14 e 15) revelam que o extrato utilizado está muito impuro, com substâncias extremamente concentradas no início do cromatograma, dificultando a identificação do pico de IAA. No tempo de retenção padronizado para esse composto (aproximadamente 20 minutos) aparecem dois picos baixos, muito próximos, não permitindo identificar qual deles é o do IAA (Figura 14).

Para identificar qual o pico correto foi adicionada uma pequena quantidade do padrão (0,4 µg) à amostra e esta foi analisada novamente. O resultado está apresentado na Figura 15, onde houve uma elevação do pico referente ao IAA. Isso prova a presença do composto pesquisado na amostra estudada, porém em quantidade muito pequena que não permite sua quantificação.

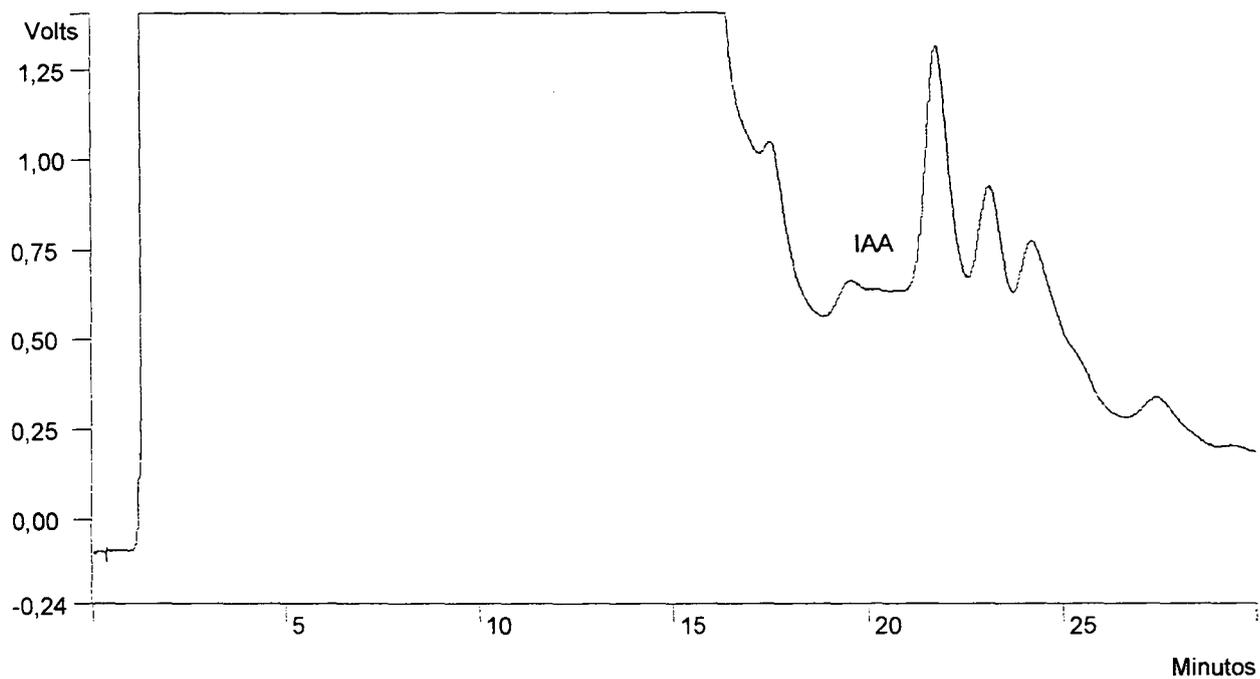


Figura 14 – Cromatograma da amostra de *Sapium glandulatum* visando o IAA (primavera de 2001)

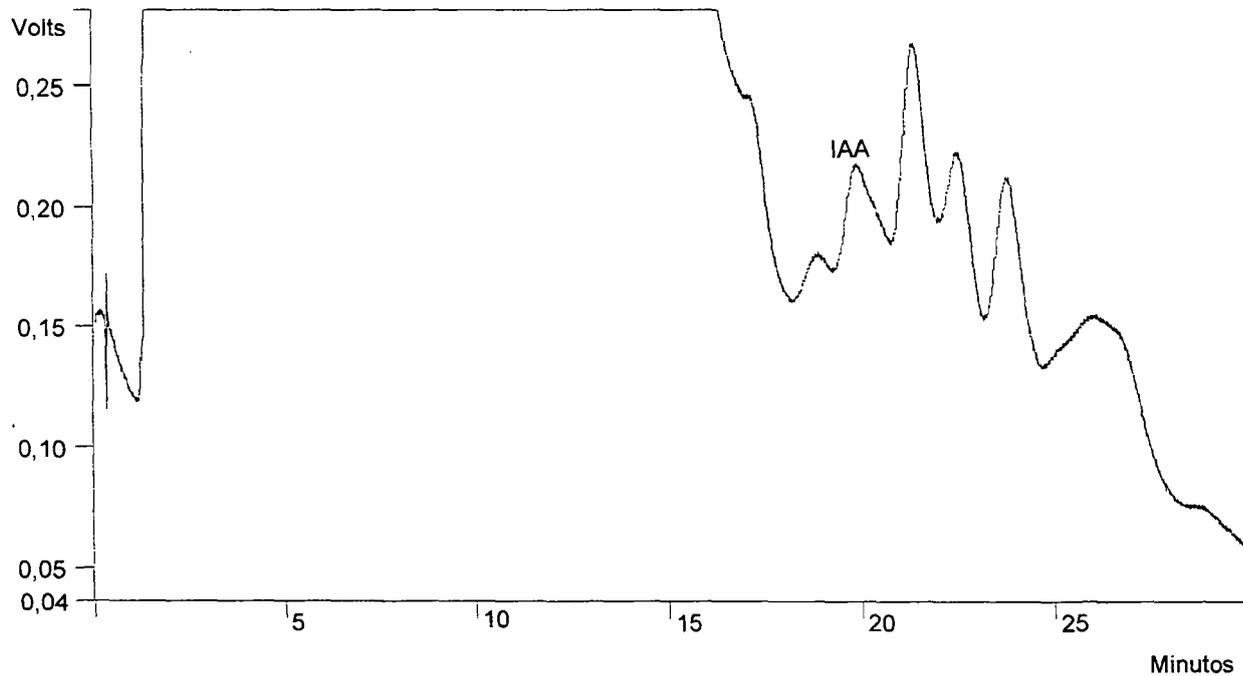


Figura 15 – Cromatograma da amostra de *Sapium glandulatum* com adição de 0,4 μ g de IAA do padrão (primavera de 2001)

O tempo de retenção da amostra de *Sapium glandulatum* obtido nesse experimento, para a extração de IAA (Figuras 14 e 15), foi semelhante ao tempo de retenção encontrado por GUERRERO *et al.* (2001) os quais obtiveram 27,5 minutos como tempo de retenção para IAA extraído de hipocótilos de *Lupinus albus*.

No entanto, resultados constatados por PERES *et al.* (1997) relataram um tempo de retenção para IAA de 51 minutos, utilizando extratos de orquídea (*Campylocentrum burchellii*) e bromélia (*Tillandsia recurvata*). ZAFFARI *et al.* (2001) também constataram um tempo de retenção de 51 minutos para IAA, trabalhando com bananeira (*Musa sp.*). Porém, tanto no trabalho de PERES *et al.* (1997) como no trabalho de ZAFFARI *et al.* (2001) a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é utilizada somente na fase inicial da extração durante o período de fracionamento dos extratos, sendo que a quantificação é feita pelo método de ELISA.

A maioria das pesquisas envolvendo a extração e quantificação de IAA é realizada utilizando o método ELISA, tendo em vista que já existe uma metodologia definida. Ao contrário, para extração de IAA pela CLAE pouco se conhece sobre o método, o que dificulta seu emprego. Porém, uma otimização do processo de extração e definição de uma metodologia que permita utilizar a CLAE para quantificar IAA endógeno de plantas, seria um grande avanço científico para pesquisas que visem à extração de componentes indólicos de plantas.

Considerando que a formação de raízes adventícias em estacas é ocasionada em resposta à concentração de auxina e que essa concentração deve ser na ordem de 10^{-7} M conforme citado por GALSTON e DAVIES (1972) e HESS (1975), possivelmente a causa do baixíssimo enraizamento de estacas de *Sapium glandulatum* possa estar relacionada a uma quantidade insuficiente de IAA nas estacas.

A baixa concentração de IAA nas estacas possivelmente é devido a presença de compostos fenólicos (monofenóis) que promovem a destruição do IAA, uma vez que potencializam o sistema IAA-oxidase/peroxidase (HARTMANN *et al.*, 2002). Embora o composto fenólico encontrado na amostra (Figura 10) não seja o ácido hidroxibenzóico, pode ser um monofenol semelhante ao próprio ácido hidroxibenzóico. Além disso, as espécies do gênero *Sapium* apresentam abundantes concentrações de compostos fenólicos especialmente taninos, comumente utilizados pela indústria farmacêutica (NEERA e ISHIMARU, 1992).

5 CONCLUSÕES

Fundamentando-se nos resultados obtidos no processo de enraizamento das estacas caulinares de *Sapium glandulatum*, conclui-se que:

1. A época de coleta do material pode exercer influência no enraizamento de estacas de *Sapium glandulatum*.
2. A primavera de 2001 foi a época mais propícia para a indução radicial, apresentando 11,3% de enraizamento com o tratamento de 6000 mgL⁻¹ IBA + 100 mgL⁻¹ UZ no substrato casca de arroz carbonizada.
3. A aplicação de UZ influencia no enraizamento de estacas de *Sapium glandulatum*.
4. *Sapium glandulatum* pode ser considerada uma espécie de difícil enraizamento.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J. A. S.; PEREIRA, M. F. D. A. Efeito de GA₃ e paclobutrazol no desenvolvimento vegetativo do girassol. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 9, n. 1, p. 53-58, 1996.

ALVES, R. E.; SILVA, A. Q.; SILVA, H.; MUSSER, R. S. Contribuição ao estudo da cultura da acerola I. efeitos do IBA e da sacarose no enraizamento de estacas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 13, n. 2, p. 19-26, 1991.

ANTUNES, L. E. C.; HOFFMANN, A.; RAMOS, J. D.; CHALFUN, N. N. J.; OLIVEIRA JÚNIOR, A. F. Efeito do método de aplicação e de concentrações do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas semilenhosas de *Pyrus calleryana*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 18, n. 3, p. 371-376, 1996.

ARTECA, R. N. **Plant growth substances: principles and applications**. New York: Chapman e Hall, 1996. 332 p.

AWAD, M.; CASTRO, P. R. C. **Introdução à fisiologia vegetal**. São Paulo: Nobel, 1983. 177 p.

BANDURSKI, R. S.; COHEN, J. D.; SLOVIN, J.; REINECKE, D. M. Hormone biosynthesis and metabolism. In: DAVIES, P. J. **Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology**. 2. ed. London: Kluwer Academic Publishers, 1995. p. 39-65.

BARBIZAN, E. L.; SANTOS, C. M.; MENDES, A. L.; LANA, R. M. Q.; SANTOS, V. L. M.; MENDONÇA, F. C.; CORREIA, N. M.; ZAGO, R. Utilização de substrato comercial e fertilizantes de liberação lenta na produção de mudas de cafeeiro em saquinhos. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE SUBSTRATOS PARA PLANTAS, 1.; 1999, Porto Alegre. **Anais**. Porto Alegre: Gênese, 1999. p. 225-233.

BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Viçosa: Imprensa Universitária, v. 2, 1984. 377 p.

BLEASDALE, J. K. A. **Fisiologia vegetal**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1977. 176 p.

BOYER, R. **Modern experimental biochemistry**. 3 ed. San Francisco: Benjamin Cummings, 2000. 475 p.

BROWSE, P. M. **A propagação de plantas**. 3 ed. Portugal: Europa-América, 1989. 228 p.

CAMERON, G. N.; GLUMAC, E. G.; ESHELMAN, B. D. Germination and dormancy in seeds of *Sapium sebiferum* (chinese tallow tree). **Journal of Coastal Research**. Royal Palm Beach, Florida, v. 16, n. 2, p. 391-395. 2000.

CARVALHO, M. A. M.; ZAIDAN, L. B. P. Obtenção de plantas de *Stevia rebaudiana* através de estacas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 201-206, 1995.

CASTRO, P. R. C.; VIEIRA, E. L. **Aplicações de reguladores vegetais na agricultura tropical**. Guaíba: Agropecuária, 2001. 132 p.

CELEGHINI, R. M. S.; VILEGAS, J. H. Y.; LANÇAS, F. M. Análise quantitativa de cumarina em amostras comerciais de "guaco" por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 1, n. 2, p. 23-28, 1999.

CONAMA. **Resolução 261**, de 30 de junho de 1999. Brasília, DOU., 02-08-1999.

COOPER, M. A. **Maximização do potencial de enraizamento de estacas de *Eucalyptus dunnii* Maiden**. Curitiba, 1990. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciências - Engenharia Florestal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

CORRÊA, M. P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: IBDF, v. 2, 1984a. 707 p.

CORRÊA, M. P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: IBDF, v. 3, 1984b. 646 p.

COSGROVE, D. J.; SOVONICK-DUNFORD, S. A. Mechanism of gibberellin-dependent stem elongation in peas. **Plant Physiology**, Rockville, v. 89, p. 184-191, 1989.

CURIR, P.; SULIS, S.; BIANCHINI, P.; MARCHESINI, A.; GUGLIERI, L.; DOLCI, M. Rooting herbaceous cuttings of *Genista monosperma* Lam.: seasonal fluctuations in phenols affecting rooting ability. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 67, n. 3, p. 301-306, 1992.

DIAS, R. M. S. L.; FRANCO, E. T. H.; DIAS, C. A. Enraizamento de estacas de diferentes diâmetros em *Platanus acerifolia* (Aiton) Willdenow. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 9, n. 2, p. 127-136, 1999.

DIETRICH, S. M. C. Inibidores de crescimento. In: FERRI, M. G. **Fisiologia vegetal**. 2 ed. São Paulo: EPU, 1986. p. 193-212.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Estaquia de erva-mate**. Curitiba: EMBRAPA, 1988. 6 p. (Circular 18).

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Informações sobre a estaquia do salseiro (*Salix humboldtiana* Willd.)**. Curitiba: EMBRAPA, 1999. 15 p. (Circular 33).

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERTEN, E.; FORTES, G. R. L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2 ed. Pelotas: UFPEL, 1995. 178 p.

FACHINELLO, J. C.; MIELKE, M. S.; NACHTIGAL, J. C. Propagação vegetativa de goiabeira serrana. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 14, n. 3, p. 233-236, 1992.

FERREIRA, B. G. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R.; KOEHLER, H. S. Efeito do ácido indol butírico e bórico no enraizamento de estacas de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISADORES NIKKEIS, 9.; 2001, São Paulo. **Anais**. São Paulo: SBPN SCIENTIFIC JOURNAL, 2001a. p. 122-123.

FERREIRA, B. G. A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R.; BOEGER, M. R. T.; KOEHLER, H. S. Enraizamento de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. pela aplicação de ácido indol butírico e ácido bórico. **Leandra**, Rio de Janeiro, v. 16, p. 11-16, 2001b.

FERRI, C. P. Enraizamento de estacas de citrus. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 19, n. 1, p. 113-121, 1997.

FINARDI, N. L. Métodos de propagação e descrição de porta-enxertos. In: MEDEIROS, C. A. B.; RASEIRA, M. C. B. **A cultura do pessegueiro**. Brasília: CIP - EMBRAPA, 1998. p. 100-129.

GALSTON, A. W.; DAVIES, P. j. **Mecanismos de controle e desenvolvimento vegetal**. São Paulo: Edgard Blücher, 1972. 171p.

GONZÁLES, M. G. N.; SCHMIDT, C. A. P. Estudo do efeito de duas concentrações de ácido indol butírico (AIB) e ácido naftaleno acético (ANA) no enraizamento de estacas herbáceas de goiabeira (*Psidium guajava* L.) cv. kumagai. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 14, n. 3, p. 229-232, 1992.

GORDON, E. H.; MACRAE, R. **Instrumental analysis in the biological sciences**. New York: Chapman e Hall, 1987. 244 p.

GRAZIANO, T. T.; DEMATTÊ, J. B. I.; VOLPE, C. A.; PERECIN, D. Interação entre substratos e fertirrigação na germinação e na produção de mudas de *Tagetes patula* L. (Compositae). **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 1, n. 2, p. 77-85, 1995.

GUERRERO, J. R.; GARCÍA-RUÍZ, P.; SÁNCHEZ-BRAVO, J.; COSTA, M.; ARNAO, M. B. Quantitation of indole-3-acetic acid by LC with electrochemical detection in etiolated hypocotyls of *Lupinus albus*. **Journal Liquid Chromatograph e Related Technologies**, Monticello, v. 24, n. 20, p. 3095-3104, 2001.

GUIMARÃES, L. F. L.; COLLINS, C. H. Cromatografia líquida de alta eficiência. In: COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 7 ed. Campinas: UNICAMP, 1997. p. 183-238.

HAISSIG, B. E. Influence of aryl esters of indole-3-acetic and indole-3-butyric acids on adventitious root primordium initiation and development **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 47, p. 29-33, 1979.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIS JÚNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: Principles and Practices**. 7 ed. New York: Englewood Clippis, 2002. 880 p.

HESS, D. **Plant physiology**. New York: Springer Verlag, 1975. 333 p.

HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; ROSSAL, P. A. L.; CASTRO, A. M.; FACHINELLO, J. C.; PAULETTO, E. A. Influência do substrato sobre o enraizamento de estacas semilenhosas de figueira e araçazeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 16, n. 1, p. 302-307, 1994.

HOFFMANN, A.; FACHINELLO, J. C.; SANTOS, A. M. Enraizamento de estacas de duas cultivares de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 1, n. 1, p. 7-11, 1995.

HOPKINS, W. G. **Introduction to plant physiology**. 2 ed. New York: John Wiley e Sons, 1999. 512 p.

INADA, S.; TOMINAGA, M.; SHIMMEN, T. Regulation of root growth by gibberellin in *Lemna minor*. **Plant Cell Physiology**, San Francisco, v. 41, n. 6, p. 657-665, 2000.

INOUE, M. T.; RODERJAN, C. V.; KUNIYOSHI, Y. S. **Projeto madeira do Paraná**. Curitiba: IBDF/SUDESUL, 1984. 260 p.

IRITANI, C. **Ação de reguladores de crescimento na propagação vegetativa por estaquia de *Ilex paraguariensis* Saint Hilaire e *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze.** Curitiba, 1981. 163 f. Dissertação (Mestrado em Ciências - Engenharia Florestal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

IRITANI, C.; SOARES, R. V.; GOMES, A. V. Aspectos morfológicos da ação de reguladores do crescimento em estacas de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Acta Biológica Paranaense**, Curitiba, v. 15. n. 1,2,3,4, p. 1-20, 1986a.

IRITANI, C.; SOARES, R. V.; GOMES, A. V. Aspectos morfológicos da ação de reguladores do crescimento em estacas de *Ilex paraguariensis* S. Hilaire. **Acta Biológica Paranaense**, Curitiba, v. 15. n. 1,2,3,4, p. 21-46, 1986b.

JANICK, J. **A ciência da horticultura**. Rio de Janeiro: F. Bastos, 1966. 485p.

JARVIS, B. C. Endogenous control of adventitious rooting in non-woody cuttings. In: JACKSON, M. B. **New root formation in plants and cuttings**. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publisher, 1986. p. 191-222.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Biologia celular e molecular**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 299 p.

KÄMPF, A. N. Substrato. In: KÄMPF, A. N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. Guaíba: Agropecuária, 2000a. p. 45-88.

KÄMPF, A. N. Temperatura. In: KÄMPF, A. N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. Guaíba: Agropecuária, 2000b. p. 116-123.

KÄMPF, A. N. Propagação. In: KÄMPF, A. N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. Guaíba: Agropecuária, 2000c. p. 149-170.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa, SP: Plantarum, 1992. 352 p.

MARTÍNEZ-CAYUELA, M.; PLATA, M. C.; FAUS, M. J.; GIL, A. Effect of some phenolic carboxylic acids on cherimoya (*Annona cherimolia*) polyphenoloxidase activity. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, England, v. 45, p. 215-222, 1988.

McNAIR, H. M.; ESQUIVEL H, B. **Cromatografia líquida de alta pressão**. Washington: Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos, 1973. 58 p.

MAYNARD, B. O. K.; BASSUK, N. L. Etiolation and banding effects on adventitious root formation. In: DAVIS, T. D.; HAISSIG, B. E.; SANKHLA, N. **Adventitious root formation in cuttings**. Portland, Oregon: Dioscorides Press, 1988. p. 29-46.

MOHR, H.; SCHOPFER, P. **Plant physiology**. Germany: Springer-Verlag, 1995. 629 p.

MRIDULA, M .K.; GUPTA, P. D.; MASCARENHAS, A. F. Rapid multiplication of *Sapium sebiferum* Roxb. by tissue culture, **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Netherlands, v. 2, p. 133-139, 1983.

NEERA, S.; ISHIMARU, K. Tannin production in cell cultures of *Sapium sebiferum*. **Phytochemistry**, Great Britain, v. 31, n. 3, p. 833-836. 1992.

OLSSON, J. C.; ANDERSSON, P. E.; KARLBERG, B.; NORDSTROM, A. C. Determination of plant indoles by capillary electrophoresis with amperometric detection. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, New York, v. 755, n. 2, p. 289-298, 1996.

ONO, E. O.; BARROS, S. A.; RODRIGUES, J. D.; PINHO, S. Z. Enraizamento de estacas de *Platanus acerifolia*, tratadas com auxinas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 9, p. 1373-1380, 1994.

PALAZZO JUNIOR, J. T.; BOTH, M. C. **Flora ornamental brasileira**: um guia para o paisagismo ecológico. Porto Alegre: Sagra, 1993. 183 p.

PANTHONG, A.; KANJANAPOTHI, D.; THITIPONPUNT, Y.; TAESOTIKUL, T. ARBAIN, D. Anti-inflammatory activity of the alkaloid bukittingine from *Sapium baccatum*. **Planta Médica**, New York, v. 64, p. 530-535, 1998.

PARANÁ. Secretaria Estadual de Desenvolvimento Urbano. Municípios do Estado. **Paraná Cidades**. Disponível em <http://www.paranacidade.org.br/municipios>. Acesso em 27 de outubro de 2003.

PERES, L. E. P.; MERCIER, H.; KERBAUY, G. B.; ZAFFARI, G. R. Níveis endógenos de AIA, citocininas e ABA em uma orquídea acaule e uma bromélia sem raiz, determinados por HPLC e ELISA. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 9, n. 3, p. 169-176, 1997.

PRATI, P.; MOURÃO FILHO, F. A.; DIAS, C. T. S.; SCARPARE FILHO, J. A. Estaquia semi-lenhosa: um método rápido e alternativo para a produção de mudas de lima ácida "tahiti". **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 1, p. 185-190, 1999.

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

RIBAS, K. C. **Interação entre auxinas e co-fatores do enraizamento na promoção do sistema radicular, em estacas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden**. Botucatu, 1997. 150 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Botânica) - Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, Universidade Estadual de São Paulo.

RODRIGUES, J. D.; ONO, E. O.; FOLONI, L. L. Efeito da aplicação de uniconazole na cultura de soja [(*Glicine max* (L.) Merrill cv IAC-17)]. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, n. 2, p. 313-319, 1998.

RODRIGUES, V. A. **Propagação vegetativa de aroeira *Schinus terebinthifolius* Raddi, canela sassafras *Ocotea pretiosa* Benth. e Hook. e cedro *Cedrela fissilis* Vellozo através de estacas radicais e caulinares**. Curitiba, 1990. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências - Engenharia Florestal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

ROSA, L. S. Indução do enraizamento de estacas de tachi-branco (*Sclerolobium paniculatum* Vogel) através da aplicação de diferentes concentrações de ácido indol - 3 - butírico. **Boletim da Faculdade de Ciências Agrárias do Pará**, Belém, n. 28, p. 81-91, 1997.

ROSSAL, P. A. L.; KERSTEN, E.; CONTER, P. F. Estudo comparativo da evolução do nível de triptofano em ramos de ameixeira (*Prunus salicina* Lindl.). **Scientia agricola**, Piracicaba, v. 54, n. 3, p. 174-177, 1997.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant physiology**. 4 ed. Califórnia: Wadsworth, 1992. 682 p.

SANCHOTENE, M. C. C. **Frutíferas nativas úteis à fauna na arborização urbana**. 2 ed. Porto Alegre: Sagra, 1989.

SANTOS, A. M. **Estudo de propagação de seringueira (*Hevea spp.*)**. Viçosa, 1986. 50 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa.

SILVA, I. C. **Propagação vegetativa de *Ocotea puberula* Nees e *Ocotea pretiosa* Benth. e Hook. pelo método de estaquia**. Curitiba, 1984. 109 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

SILVA, I. C. **Propagação vegetativa: aspectos morfofisiológicos**. Itabuna: CEPLAC, 1985, 26 p. (Boletim técnico).

SIRIL, E. A.; DHAR, U.; DHYANI, P. P. Seed germination of Chinese tallow tree (*Sapium sebiferum*). **Forest, Farm, and Community Tree Research Reports**, Morrilton, v. 3, p. 55-58, 1998.

SOUZA, M. M.; LOPES, L. C.; FONTES, L. E. F. Avaliação de substratos para o cultivo de crisântemo (*Chrysanthemum morifolium* Ramat., Compositae) "White Polaris" em vasos. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 1 n. 2, p. 71-77, 1995.

SUMITOMO CHEMICAL CORPORATION LTD. **S3307D: a new plant growth regulator**. Osaka: Plant Protection Division Internationals, 43 p. s/d.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TAYLOR, S. E.; WILLIAMSON, E. M.; EVANS, F. J. Phorbol derivatives from *Sapium insigne*. **Phytochemistry**, Great Britain, v. 22, n. 5, p. 1231-1233, 1983.

TILLMANN, M. A. A.; CAVARIANI, C.; PIANA, Z.; MINAMI, K. Comparação entre diversos substratos no enraizamento de estacas de cróton (*Codiaeum variegatum* L.). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 51 n. 1, p. 17-20, 1994.

TING, I. P. **Plant physiology**. Riverside, California: Addison – Wesley Publishing Company, 1982, 642 p.

TOFANELLI, M. B. D.; CHALFUN, N. N. J.; HOFFMANN, A.; ANTUNES, L. E. C. Enraizamento de estacas lenhosas e semilenhosas de cultivares-copa de pessegueiro em diferentes concentrações de ácido indolbutírico, **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 19, n. 2, p. 259-263, 1997.

VÁLIO, I. F. M. Auxinas. In: FERRI, M. G. **Fisiologia Vegetal**. 2 ed. São Paulo: EPU, 1986. p. 39-72.

VALLE, L. S.; KAPLAN, M. A. C. *Sapium glandulatum* complex (Euphorbiaceae). In: ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS, 72 (2).; 2000, Rio de Janeiro. **Anais. ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS**, 2000. p. 293-294.

VIEITEZ, F. J.; BALLESTER, A. Effect of etiolation and shading on the formation of rooting inhibitors in chestnut trees. **Phyton**, Vicente Lopes, Argentina, v. 48, n. 1/2, p. 13-19, 1988.

ZAFFARI, G. R.; PERES, L. E. P.; TCACENCO, F. A.; KERBAUY, G. B. Indole-3-acetic acid metabolism in normal and dwarf micropropagated banana plants (*Musa* spp. AAA). **Brazilian Journal Plant Physiology**, Campinas, v. 14, n. 3, p. 211-217, 2002.

ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; RODRIGUES, J. D. **Estaquia: uma abordagem dos principais aspectos fisiológicos**. Curitiba: [Katia C. Zuffellato-Ribas], 2001. 39 p.

ANEXOS

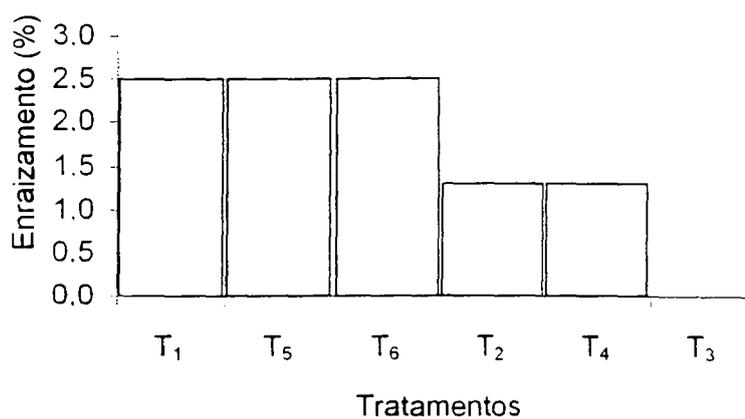
Anexo 1 – Temperaturas médias da máxima, média e da mínima mensal da região de Pinhais – PR, durante outubro de 2001 a setembro de 2002.

	Temperatura média da máxima mensal (°C) ¹	Temperatura média mensal (°C) ¹	Temperatura média da mínima mensal (°C) ¹
Outubro/2001	23,3	16,8	12,7
Novembro/2001	24,4	18,8	14,9
Dezembro/2001	25,2	19,3	15,5
Janeiro/2002	26,6	20,5	16,6
Fevereiro/2002	26,1	19,7	15,7
Março/2002	28,7	21,8	17,5
Abril/2002	25,6	19,8	16,2
Maio/2002	21,7	16,5	13,5
Junho/2002	21,8	15,8	11,7
Julho/2002	19,1	12,9	08,8
Agosto/2002	22,9	16,3	11,4
Setembro/2002	21,1	14,3	09,8

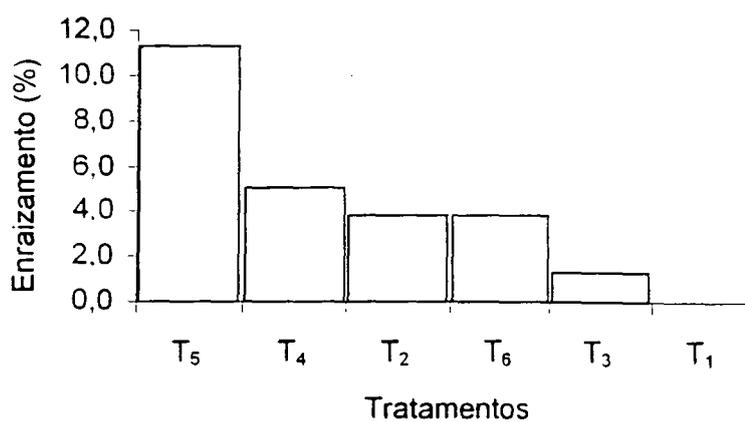
¹ Dados fornecidos pelo Serviço Meteorológico do Paraná (SIMEPAR), Estação 25254905, localizada no município de Pinhais – PR.

Anexo 2 – Resultados em ordem decrescente das porcentagens de estacas de *Sapium glandulatum* enraizadas, para os tratamentos utilizados nos substratos vermiculita e casca de arroz carbonizada, coletadas na primavera de 2001, Colombo, PR, 2003.

Vermiculita



Casca de arroz carbonizada



T₁: 0 mg L⁻¹ IBA

T₂: 6.000 mg L⁻¹ IBA

T₃: 12.000 mg L⁻¹ IBA

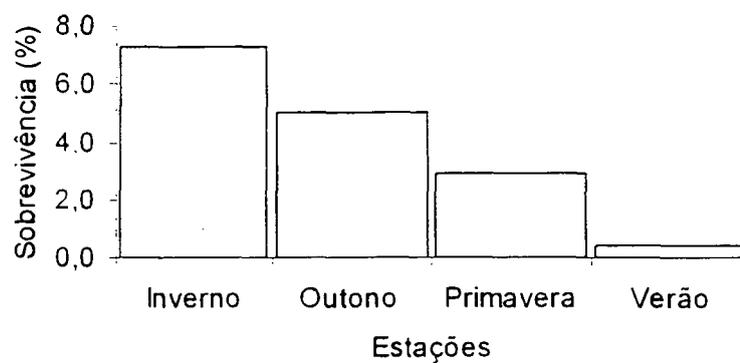
T₄: 0 mg L⁻¹ IBA + 100 mg L⁻¹ UZ

T₅: 6.000 mg L⁻¹ IBA + 100 mg L⁻¹ UZ

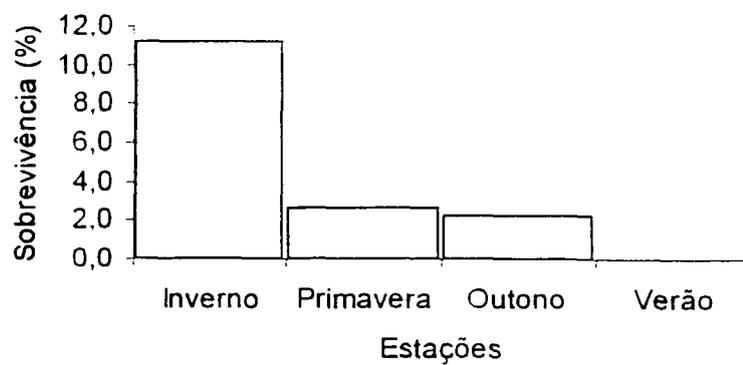
T₆: 12.000 mg L⁻¹ IBA + 100 mg L⁻¹ UZ

Anexo 3 – Resultados em ordem decrescente da média geral das porcentagens de estacas de *Sapium glandulatum* vivas, nos substratos vermiculita e casca de arroz carbonizada, coletadas na primavera de 2001, verão, outono e inverno de 2002, Colombo, PR, 2003.

Vermiculita



Casca de arroz carbonizada



Anexo 4 – Resultados em ordem decrescente da média geral das porcentagens de estacas de *Sapium glandulatum* mortas, nos substratos vermiculita e casca de arroz carbonizada, coletadas na primavera de 2001, verão, outono e inverno de 2002, Colombo, PR, 2003.

