

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Estaquia de matrizes adultas de *Pinus elliottii* var. *elliottii* e  
*Pinus elliottii* x *Pinus caribaea***

**Priscilla de Oliveira Antonelli**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra  
em Ciências, Programa: Recursos Florestais.  
Opção em: Silvicultura e Manejo Florestal

**Piracicaba  
2013**

Priscilla de Oliveira Antonelli  
Engenheira Florestal

**Estaquia de matrizes adultas de *Pinus elliottii* var. *elliottii* e  
*Pinus elliottii* x *Pinus caribaea***

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011.

Orientador:

Prof. Dr. **MARCÍLIO DE ALMEIDA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de  
Mestra em Ciências, Programa: Recursos Florestais.  
Opção em: Silvicultura e Manejo Florestal

**Piracicaba  
2013**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Antonelli, Priscilla de Oliveira

Estaquia de matrizes adultas de *Pinus elliottii* var. *elliottii* e *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* / Priscilla de Oliveira Antonelli. -- versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2013.

90 p: il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2013.

1. Clonagem 2. Enraizamento adventício 3. Tipo de estaca 4. Regulador de crescimento I. Título

CDD 634.9751  
A634e

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

A DEUS e toda espiritualidade amiga, que nunca me abandonaram,  
mesmo nos momentos em que estive mais longe

*Ofereço*

*Dedico*

A toda minha família e amigos,  
pois sem o amor de vocês eu não seria nada.



## AGRADECIMENTOS

Ao Engenheiro Florestal José Jorge, da empresa Resinas Brasil, por confiar a mim a realização do presente trabalho;

A empresa RESIFLOR, parte do grupo Resinas Brasil, pelo auxílio financeiro e por conceder o material vegetal e toda infraestrutura necessária para a realização desta pesquisa;

Ao Prof. Dr. Marcílio de Almeida, pela amizade e pela confiança de me receber em sua equipe e me orientar no momento que eu mais precisava;

A Universidade de São Paulo (USP/ESALQ) e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, pela oportunidade de realização do meu mestrado, que contribui de maneira expressiva à minha formação profissional e pessoal;

Ao Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF) pelo apoio administrativo;

Ao Prof. Dr. Antônio Natal Gonçalves, pela co-orientação, amizade e pela confiança de me receber em teu laboratório;

A Dra. Cristina Vieira de Almeida pela colaboração e amizade;

Ao Engenheiro Florestal Gonçalo Castel'Branco, pelo auxílio técnico-científico, pela confiança, amizade e paciência;

Aos funcionários da ESALQ, em especial aos técnicos José Roberto e Eveline pelo auxílio nas atividades laboratoriais e amizade;

Aos amigos do laboratório, Lívia, Gabriela, Rafaella, Germana, Marília, Natalia, Katherine, Fabiane, Leandro, Gilvano, Erika, Francisco e Javier pela amizade, convivência, colaboração e carinho nos momentos difíceis e de descontração durante estes dois anos;

A todas as amigas da República Cupido, por fazerem parte da minha vida como uma família;

Aos meus amigos, irmãos de coração, Sândala, Tamires, Felipe, Juliana, Paulinha, Paula Paié, Joice, Tomás, Guilherme, Dodo, Beavis, Dú, Boidéia, José Luiz, Carlinha, Desirée, Ayeska, Molico e Maieça;

Aos meus dois irmãos, Vanessa e Cristian, por fazerem parte de minha vida;

Ao meu sobrinho lindo Matheus, que amo muito;

Aos meus padrinhos Leslie e Paulo, pelo amor e por serem meus segundos pais;

Aos meus “primos/ irmãos” Junior, Karina, Talita e seu filho Murilo;

A minha mãe Ivana, pelo amor, dedicação, paciência e pelas longas conversas;

Ao meu pai Rubens, que mesmo não estando fisicamente, está ao meu lado me guiando e me concedendo força e amor nesta minha jornada terrestre.

*“A arte de viver consiste em tirar o maior bem do maior mal”.*

**MACHADO DE ASSIS**





## SUMÁRIO

RESUMO .....	13
ABSTRACT .....	15
1 INTRODUÇÃO.....	17
1.1 Revisão bibliográfica.....	18
1.1.1 <i>Pinus elliottii</i> e <i>Pinus elliottii</i> x <i>Pinus caribaea</i> e suas importâncias econômicas.....	18
1.1.2 Estaquia de espécies lenhosas.....	18
1.1.2.1 Genótipo .....	19
1.1.2.2 Tipo das estacas .....	20
1.1.2.3 Época de coleta.....	21
1.1.2.4 Estado nutricional .....	22
1.1.2.5 Temperatura.....	23
1.1.2.6 Luminosidade .....	23
1.1.2.7 Umidade .....	24
1.1.2.8 Fungicidas.....	24
1.1.2.9 Reguladores de crescimento .....	25
1.1.2.10 Maturação e rejuvenescimento .....	26
Referências .....	29
2 ESTAQUIA DE <i>Pinus elliotti</i> E <i>Pinus elliottii</i> X <i>Pinus caribaea</i> NO 5º ESTÁGIO DE ENXERTIA SERIADA.....	37
Resumo .....	37
Abstract.....	37
2.1 Introdução.....	38
2.2 Material e métodos .....	40
2.2.1 Experimento 1 .....	40
2.2.1.1 Caracterização geral do experimento .....	40
2.2.1.2 Obtenção das matrizes e constituição do jardim clonal de enxertia seriada.....	40
2.2.1.3 Coleta e preparo dos explantes .....	41
2.2.1.4 Tratamentos e delineamento experimental .....	41
2.2.2 Experimento 2 .....	42
2.2.2.1 Caracterização geral do experimento .....	42
2.2.2.2 Obtenção das matrizes e constituição do jardim clonal de enxertia seriada.....	42

2.2.2.3 Coleta e preparo dos explantes .....	45
2.2.2.4 Tratamentos e delineamento experimental .....	45
2.2.3 Coleta dos dados .....	46
2.2.3.1 Temperatura e umidade do ar da casa de vegetação.....	46
2.2.3.2 Experimento 1 .....	47
2.2.3.3 Experimento 2 .....	47
2.2.4 Análise estatística dos dados .....	47
2.3 Resultados e discussão .....	47
2.3.1 Experimento 1 .....	47
2.3.1.1 Temperatura e umidade relativa do ar da casa de vegetação.....	47
2.3.1.2 Sobrevivência e enraizamento das estacas de <i>Pinus elliottii</i> e de <i>Pinus elliottii</i> x <i>Pinus caribaea</i> .....	50
2.3.2 Experimento 2 .....	54
2.3.2.1 Temperatura e umidade relativa do ar da casa de vegetação.....	54
2.3.2.2 Sobrevivência, enraizamento, número de raízes e comprimento total de raiz das estacas de <i>Pinus elliottii</i> X <i>Pinus caribaea</i> .....	56
2.4 Conclusões.....	60
Referências .....	60
<b>3 ESTAQUIA DE <i>Pinus elliottii</i> NO 2º ESTÁGIO DE ENXERTIA SERIADA COM PODAS SUCESSIVAS .....</b>	<b>65</b>
Resumo .....	65
Abstract.....	65
3.1 Introdução.....	66
3.2 Material e métodos .....	67
3.2.1 Caracterização geral do experimento .....	67
3.2.2 Obtenção das matrizes e constituição do jardim clonal de enxertia seriada.....	67
3.2.3 Coleta e preparo dos explantes .....	68
3.2.4 Tratamentos e delineamento experimental .....	69
3.2.5 Coleta dos dados.....	69
3.2.6 Análise estatística dos dados .....	70
3.3 Resultados e discussão .....	70
3.4 Conclusão .....	75
Referências .....	75

4 ESTAQUIA DE BRAQUIBLASTOS E BROTOS DE MATRIZES ADULTAS DE <i>Pinus elliottii</i> E <i>Pinus elliottii</i> x <i>Pinus caribaea</i> .....	79
Resumo .....	79
Abstract.....	79
4.1 Introdução.....	80
4.2 Material e métodos .....	81
4.2.1 Caracterização geral do experimento .....	81
4.2.2 Obtenção das matrizes e constituição do jardim clonal de enxertia seriada.....	81
4.2.3 Coleta e preparo dos explantes .....	82
4.2.3.1 Coleta e preparo dos braquiblastos.....	82
4.2.3.2 Coleta e preparo dos brotos .....	83
4.2.4 Tratamentos e delineamento experimental .....	84
4.2.5 Coleta dos dados.....	84
4.2.6 Análise estatística dos dados .....	85
4.3 Resultados e discussão .....	85
4.4 Conclusões.....	87
Referências .....	87



## RESUMO

### **Estaquia de matrizes adultas de *Pinus elliottii* var. *elliottii* e *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea***

O *Pinus elliottii* representa o principal produtor atual de exploração de resina no setor florestal brasileiro. Recentemente, plantios de *P. elliottii* X *P. caribaea* vêm se destacando, principalmente, pela sua maior produtividade em biomassa. Além disto, a resina do híbrido apresenta características químicas semelhantes aos seus parentais. Porém, poucas são as informações quanto a estaquia de espécies do gênero *Pinus*, e se focarmos na propagação de árvores adultas, tal carência é ainda maior, principalmente ao se considerar a dificuldade de rejuvenescimento/revigoramento do material genético. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo geral avaliar o enraizamento adventício do *P. elliottii* var. *elliottii* e *P. elliottii* X *P. caribaea* adultos. Para tanto, o trabalho foi dividido em três diferentes estudos. O primeiro (Capítulo 2) avaliou o enraizamento adventício de estacas das matrizes adultas de *P. elliottii* e *P. elliottii* X *P. caribaea* no 5º estágio de enxertia seriada com e sem podas sucessivas, sob ação do AIB, talco com fungicida Cerconil® e terebentina. O segundo (Capítulo 3) foi baseado na avaliação do enraizamento adventício de estacas no 2º estágio de enxertia seriada de uma matriz adulta de *P. elliottii* var. *elliottii* submetida a um ano de podas sucessivas, sob ação do AIB, terebentina e paclobutrazol. Por sua vez, o terceiro estudo (Capítulo 4) consistiu na avaliação do enraizamento adventício de braquiblastos e brotos de duas matrizes adulta de *P. elliottii* e *P. elliottii* X *Pinus caribaea*, sob ação do AIB e paclobutrazol. Os resultados permitiram inferir que a sobrevivência e o enraizamento adventício aos diferentes tratamentos variaram de acordo com o genótipo e com as características morfológicas das estacas (grau de lignificação e tipo de estacas, brotos e braquiblastos). De maneira geral, os resultados evidenciaram a atuação das enxertias seriadas e das podas sucessivas na restauração da competência rizogênica das estacas dos brotos das matrizes adultas de *P. elliottii* e *P. elliottii* X *P. caribaea*, promovido pelo rejuvenescimento/ revigoramento parcial das matrizes. Além disto, a estaquia de braquiblastos mostrou ser uma ferramenta promissora para a propagação de espécies do gênero *Pinus*.

Palavras-chave: Clonagem; Enraizamento adventício; Tipo de estaca; Regulador de crescimento



## ABSTRACT

### **Adventitious rooting of mature *Pinus elliottii* var. *elliottii* and *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* cuttings**

*Pinus elliottii* is the main current resin extraction producer in the Brazilian forest sector. Recently, plantations of *P. elliottii* X *P. caribaea* play a great importance in the production systems mainly by its high biomass productivity. In addition, the hybrid resin has chemical characteristics similar to their parents. However, there is little information on obtaining clones, and considering the propagation of mature trees, this lack of information is even greater, mainly concerning the difficulty to achieve the rejuvenation/ reinvigoration of the genetic material. Based on these information, the present work was aimed to evaluate the adventitious rooting of mature *P. elliottii* var. *elliottii* and *P. elliottii* X *P. caribaea* cuttings. Therefore, the work was divided into three basic studies. The first study (Chapter 2) was based on the evaluation of adventitious rooting of mature *P. elliottii* and *P. elliottii* X *caribaea* cuttings of grafts up five sequential grafting with and without pruning, under the action of AIB, talc with fungicide and turpentine. The second (Chapter 3) was based on the evaluation of adventitious rooting of mature *P. elliottii* cuttings of grafts up two sequential grafting with pruning, under the action of IBA, paclobutrazol and turpentine. The third (Chapter 4) evaluated the adventitious rooting of brachyblast and shoots of mature *P. elliottii* and *P. elliottii* X *caribaea* cuttings, under the action of IBA and paclobutrazol. Results showed that the cutting survival and root growth, under the action of different treatments, varied according to the genotype and morphological characteristics of the material (cutting lignifications and type, brachyblast or shoot). Overall, our results showed the performance of serial grafting and pruning on the restoration of rooting competence in *P. elliottii* and *P. elliottii* X *P. caribaea* stem cuttings, promoted by the rejuvenation of trees. Moreover, the cutting of brachyblast can be a promising tool for the propagation of *Pinus* species.

Keywords: Cloning, Adventitious rooting; Type cutting; Plant growth regulator





## 1 INTRODUÇÃO

As regiões sul e sudeste do Brasil formam o maior polo de plantios florestais de espécies do gênero *Pinus* com a finalidade de atender a exigência por produtos derivados de biomassa lenhosa. Além disto, nestas áreas, a exploração da resina pode se constituir em uma fonte de renda adicional à da exploração da madeira, gerando benefícios em termos de oportunidades de fixação de mão de obra rural para a exploração da resina, antecipação de receita, bem como, contribuindo para a redução das necessidades de importação de resina e seus produtos derivados, utilizados nas indústrias de tintas, vernizes, adesivos, borracha sintética, goma de mascar, perfumaria, cosméticos, detergentes, etc. Dentre as espécies do gênero *Pinus*, o *P. elliottii* é a principal espécie utilizada na produção comercial de resina. Recentemente, plantios do híbrido *P. elliottii* X *P. caribaea* vem ganhando destaque pela sua maior produtividade em biomassa, sem excluir a qualidade da resina, que se assemelha a dos seus parentais. Dessa forma, ao considerar o potencial destas espécies em produzir madeira e resina para inúmeras aplicações, fez com que essas espécies adquirissem relevância comercial, despertando o interesse em relação a diversos programas de melhoramento. Entretanto, a seleção de genótipos superiores em produtividade de resina ainda não é realizada em plantas jovens, sendo necessário esperar que a árvore tenha um diâmetro mínimo apropriado para a realização da resinagem, ocorrendo em torno dos oito anos de idade onde a árvore apresenta um diâmetro de  $\pm 18$  cm, e portanto, apresente-se recalcitrante ao enraizamento devido ao maior grau de maturação.

Na clonagem de *Pinus* spp., a propagação por estaquia é um dos métodos mais utilizados na multiplicação de genótipos superiores. No entanto, a falta de conhecimento morfogênico e de um protocolo de propagação por estaquia, com estacas provenientes de árvores adultas de *Pinus* spp., ainda representa o principal obstáculo para o desenvolvimento da propagação clonal de matrizes superiores. Outro fator limitante para o sucesso da clonagem são as reduzidas taxas de sobrevivência e enraizamento adventício, decorrente da dificuldade de rejuvenescimento/revigoramento do material genético da maioria das espécies do gênero *Pinus*.

Baseado nesse contexto, o trabalho teve como objetivo geral, gerar informações sobre o enraizamento adventício do *P. elliottii* var. *elliottii* e do *P. elliottii* X *P. caribaea* adultos por meio da técnica de estaquia de brotos, visando estabelecer protocolos de propagação para estas espécies.

## 1.1 Revisão bibliográfica

### 1.1.1 *Pinus elliottii* e *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* e suas importâncias econômicas

Espécies do gênero *Pinus* são largamente utilizadas em reflorestamento no Brasil, com 1.641.892 hectares plantados (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS – ABRAEF, 2012). A madeira de *Pinus* spp. possui uso diversificado, destinando-se de forma mais expressiva às indústrias de papel e celulose, serrarias, laminadoras e indústrias de aglomerados. A árvore produz, ainda, a resina, que é exsudada como resposta da árvore a injúrias provocadas por agentes externos. Sendo assim, nestas áreas, a exploração da resina pode se constituir em uma fonte de renda adicional à da exploração da madeira (SHIMIZU; SPIR, 1999). A resina de *Pinus* spp. possui diversificados usos, sendo muito utilizada nas indústrias de tintas, colas, borracha sintética, detergentes etc (SHIMIZU, 1980).

Segundo a ARESB (Associação de Resinadores do Brasil), o Brasil é o segundo maior produtor de resina do mundo, sendo o *P. elliottii* a principal espécie utilizada na produção comercial de resina (SHIMIZU; SPIR, 1999), destacando-se dentre as espécies do gênero *Pinus* resinados pela qualidade e alto teor de resina nele encontrado (GARRIDO et al., 1998).

Recentemente, plantios comerciais de *P. elliottii* var. *elliottii* x *P. caribaea* var. *hondurensis* vêm destacando-se pela sua forma de fuste e por sua maior produtividade em biomassa em relação ao seus parentais (DIETERS; BRAWNER, 2007), além da qualidade e produtividade de sua resina (PANG et al., 2009). Ainda, segundo Pang et al. (2009), o híbrido apresentou maior produtividade em resina quando comparado ao *P. elliottii*, *P. caribaea* e *P. massoniana*, não apresentando diferenças significativas entre a composição química de sua resina.

### 1.1.2 Estaquia de espécies lenhosas

A propagação de genótipos superiores de espécies florestais tem sido uma grande ferramenta nos programas de melhoramento genético e pode ser feita através de estaquia, enxertia, multiplicação *in vitro* ou micropropagação por embriogênese somática e/ou organogênese adventícia (WENDLING; XAVIER, 2001; HENRIQUE et al., 2006).

A propagação via estaquia, por sua vez, é um dos métodos mais importantes na multiplicação de espécies florestais elites economicamente importantes (CUNHA et al., 2009a), gerando plantios homogêneos e com maior produtividade (HORGAN; SKUDDER; HOLDEN, 1997; INOUE; PUTTON, 2007; RAGONEZI et al., 2010). Além disto, a propagação por estaquia, assim como outras técnicas de propagação, proporciona a melhoria das qualidades da madeira e de seus produtos, a multiplicação de indivíduos resistentes a pragas e doenças e adaptados a sítios específicos, com a transferência de geração para geração dos componentes genéticos aditivos e não-aditivos, resultando em maiores ganhos dentro de uma mesma geração de seleção (ANDREJOW, 2006).

O enraizamento adventício é um processo de desenvolvimento complexo, considerado uma etapa crítica no processo de propagação via estaquia (RAGONEZI et al., 2010) e pode ser dividido em três estágios: iniciação, alongamento das raízes iniciais e crescimento e desenvolvimento das raízes (HARTMANN et al., 2002).

A importância de se conhecerem os fatores que influenciam na formação de raízes está relacionada ao sucesso ou ao fracasso da produção de mudas via estaquia, sendo os principais fatores àqueles relacionados com: (1) genótipo; (2) tipo das estacas; (3) época de coleta; (4) estado nutricional; (5) temperatura; (6) luminosidade; (7) umidade; (8) aplicação de biocidas, como os fungicidas; (9) aplicação de reguladores de crescimento e (10) idade ontogenética (maturação) da planta matriz, utilizada para coleta das estacas.

#### **1.1.2.1 Genótipo**

O genótipo é um dos fatores críticos para a propagação de algumas espécies lenhosas (KIBBLER; JOHNSTON; WILLIAMS, 2004). Diversos trabalhos verificaram que o enraizamento adventício é genótipo-dependente, ou seja, há diferença de comportamento dos clones/matrizes em relação à competência ao enraizamento das estacas (GREENWOOD; SAM FOSTER; AMERSON, 1991; MALAVASI, 1994; MOKOTEDI et al., 2000). Sendo assim, estacas de diferentes matrizes provenientes dos mesmos parentais podem requerer diferentes condições de cultivo (MOKOTEDI et al., 2000). Segundo Moon e Yi (1993) as diferenças entre os clones de *Quercus acutissima* são críticas para propagação por estaquia, visto a existência de variações de respostas de enraizamento de até 80% entre os clones estudados, não apresentando, entretanto,

diferença significativa em relação a diferentes idades ontogenéticas (34 e 67 anos) de um mesmo clone.

### 1.1.2.2 Tipo das estacas

Nas espécies do gênero *Pinus*, brotações axilares geralmente se originam de meristemas quiescentes pré-existentes, como os localizados na face adaxial de acículas juvenis, nas axilas dos cotilédones, no centro do fascículo de um braquiblasto, e na face adaxial de escamas de acículas maduras (ROCHA; NIELLA, 2002). Tanto em segmentos nodais, quanto em brotações apicais de explantes *in vitro*, as novas brotações obtidas foram predominantemente axilares, sendo observados três padrões: brotações formadas a partir de gemas laterais, a partir de gema do braquiblasto e brotações secundárias (brotação da brotação). Em explantes com formação de braquiblastos e acículas trifolioladas, a formação de novas brotações se deu preferencialmente nas gemas de braquiblastos do que nas gemas laterais de acículas unifolioladas (CÉZAR, 2011). Os braquiblastos podem ser definidos como ramos curtos, de apenas poucos milímetros, que se desenvolveram a partir da folha primária. As escamas presentes na base dos braquiblastos envolvem e mantêm unidas as acículas, fazendo com que as acículas permaneçam eretas e assim, protejam o meristema quiescente do braquiblasto (Figura 1). Em situações de traumas ou de perda do meristema apical do ramo o meristema do braquiblasto poderá ser induzido a formar um novo broto (GIL; PRADA, 1993).

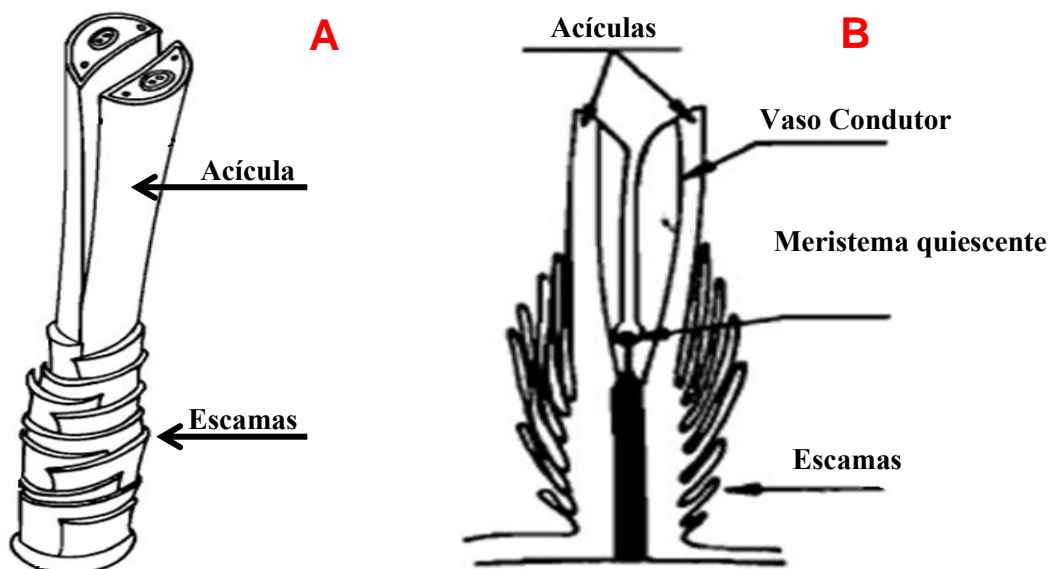


Figura 1 – A: Esquema externo do braquiblasto; B: Esquema da seção longitudinal do braquiblasto, mostrando o meristema interno quiescente (B). Esquema adaptado de Gil e Prada (1993)

Sendo assim, as espécies do gênero *Pinus* podem ser propagadas tanto pela estaquia de brotos, como pela estaquia de braquiblastos (MERGEN; SIMPSON, 1964). Segundo Hoff e McDonald (1968) a estaquia de braquiblastos é uma técnica de propagação interessante, principalmente em espécies do gênero *Pinus* onde outras técnicas convencionais de propagação (estaquia de brotos e enxertia) não demonstram resultados satisfatórios. Para Nelson; Linghai e Hamaker (1992) a estaquia de braquiblasto tem sido testada pelo seu potencial uso na propagação das espécies de *Pinus taeda*, *Pinus elliottii* e *Pinus palustris*.

Além disto, de acordo com o estágio de desenvolvimento, as estacas podem ser classificadas como herbáceas, semilenhosas e lenhosas (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005). Segundo Oliveira et al. (2001) as estacas herbáceas apresentam maior competência ao enraizamento que as lenhosas. Para Tofanelli et al. (2001), este comportamento justifica-se pelas estacas herbáceas e semilenhosas, apresentarem um tecido mais sensível à ação dos reguladores de crescimento e também por estas serem menos lignificadas do que as lenhosas e, deste modo, não apresentarem casca nem anel de esclerênquima entre o floema e o córtex altamente lignificados, que poderiam constituir uma barreira física à emergência das raízes. Já para Fachinello, Hoffmann e Nachtigal (2005), as estacas lenhosas são mais lignificadas e apresentam maior potencial de enraizamento devido ao maior teor de carboidratos. Além disto, em algumas espécies, o diâmetro e o tamanho da estaca pode influenciar o enraizamento adventício, tendo em vista as maiores quantidades de reservas nas estacas mais grossas (OLIVEIRA et al., 2001). Nestes casos, os carboidratos são utilizados como fontes de energia e de carbono para a síntese de outras substâncias essenciais à formação de raízes (MALAVASI, 1994), uma vez que o enraizamento adventício demanda grande gasto de energia (HARTMANN et al., 2002).

### **1.1.2.3 Época de coleta**

A época do ano em que as brotações são coletadas também é um fator decisivo para o sucesso do enraizamento (KIBBLER; JOHNSTON; WILLIAMS, 2004; ALCANTARA et al., 2008). Para cada espécie é necessário que se determine qual a melhor estação do ano para se realizar a coleta do material para confecção das estacas, a qual está diretamente relacionada com a condição fisiológica da planta matriz

(HARTMANN et al., 2002). As maiores porcentagens de enraizamento são observadas em diversas espécies lenhosas, durante os períodos mais quentes do ano (primavera e verão) (TORRES, 2003; ALCANTARA et al., 2008), possivelmente esteja relacionada ao fato de as estacas terem sido expostas anteriormente a um período de repouso vegetativo, ocasionado pelos meses de inverno, que antecederam as coletas de brotações, proporcionando acúmulo de carboidratos favoráveis à formação de raízes (ALCANTARA et al., 2008). As reservas mais abundantes de carboidratos correlacionam-se com as maiores porcentagens de sobrevivência e enraizamento de estacas (ROWE et al., 2002), uma vez que a auxina requer fonte de carbono para a biossíntese de ácidos nucleicos e proteínas, levando à necessidade de energia e carbono para formação das raízes (FACHINELLO et al., 1995). Além disto, os meses mais quentes, também, estão associados à fase de maior atividade metabólica, propiciando assim, maior porcentagem de enraizamento (ALCANTARA et al., 2008).

#### **1.1.2.4 Estado nutricional**

O estado nutricional da planta matriz fornecedora dos propágulos para a estaquia é um fator determinante para o sucesso da propagação, tendo em vista que o estado nutricional determinará a quantidade de carboidratos, auxinas, entre outros compostos metabólicos, fundamentais à iniciação e desenvolvimento radicial e à velocidade com que estes ocorrem. Sendo assim, especial atenção deve ser dada à nutrição da planta matriz, visando atender às exigências nutricionais requeridas no processo de rizogênese adventícia (CUNHA et al., 2009b).

Apesar da importância em manter as plantas-matriz sob condições nutritivas ótimas antes da coleta das estacas, é difícil quantificar o efeito da nutrição na iniciação e no alongamento dos primórdios radiculares (HARTMANN et al., 2002). Além disto, a mobilização dos nutrientes durante a rizogênese pode variar entre a iniciação e desenvolvimento radicial, sugerindo que, dentro de certos limites o estado nutricional da planta-matriz, ou estacas, possui maior impacto no crescimento e desenvolvimento radicular do que na iniciação radicular (DAVIS; HAISSIG; SNAKHLA, 1988; MALAVASI, 1994; CUNHA et al., 2009b).

Segundo Xavier (2002), a nutrição pode influenciar o enraizamento de duas formas distintas: decorrente do vigor vegetativo da planta, da qual são coletadas as brotações, ou do próprio estado nutricional do material coletado.

Embora a nutrição mineral e o enraizamento adventício estejam intimamente relacionados, o assunto é complexo visto que a formação de raízes em estacas inclui múltiplas fases e poucos estudos têm distinguido a relação da nutrição mineral e as fases da rizogênese (CUNHA et al., 2009b).

#### **1.1.2.5 Temperatura**

A temperatura é também um dos aspectos mais importantes para o sucesso da propagação vegetativa (HARTMANN et al., 2002), sendo assim, o conhecimento da influência da temperatura no enraizamento é fundamental para a otimização da propagação de espécies lenhosas (RASMUSSEN; SMITH; HUNT, 2009). A temperatura por ter importante função regulatória do metabolismo das plantas afeta diretamente o enraizamento das estacas (XAVIER, 2002), de forma a influenciar na orientação radicular, nas respostas gravitrópicas e na velocidade de enraizamento (KRISTIANSEN; BREDMOSE; NIELSEN, 2005).

Apesar de as temperaturas do ar mais elevadas estimularem o desenvolvimento das raízes, também tendem a promover o crescimento da parte aérea antes do início do enraizamento e assim, aumentar a perda de água pelas folhas, o que poderá levar à dessecação das estacas. Nesta situação, é importante que se tenha uma adequada umidade relativa do ar, de modo a favorecer o potencial hídrico das estacas. Por outro lado, em condições de baixas temperaturas, a respiração é reduzida, o que permite uma melhor acumulação fotossintética para o desenvolvimento das raízes (HARTMANN et al., 2002).

A temperatura ótima para favorecer o enraizamento das estacas é bastante variável, sendo dependente das peculiaridades das plantas, do período de propagação, do grau de lignificação das estacas e das condições climáticas do local (KOMISSAROV, 1969). Em condições tropicais e subtropicais, a temperatura ambiente deve variar na faixa de 25°C a 30°C durante o dia, enquanto que a do substrato deve ficar entre 21°C e 26°C (BERTOLOTI; GONÇALVES, 1980).

#### **1.1.2.6 Luminosidade**

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



A radiação é referida por desempenhar um papel importante na resposta ao enraizamento, no desenvolvimento de raízes adventícias e na capacidade de sobrevivência das estacas, atendendo que a luz influencia o nível e a translocação de reguladores de crescimento e a produção de assimilados (MPATI, 2006).

Segundo Hartmann et al. (2002) existe uma complexa relação entre o fotoperíodo e a organogênese das raízes, podendo variar entre as espécies. Por exemplo, o enraizamento adventício de estacas de clones de *Eucalyptus* foi maior nas estações mais frias do ano (menor intensidade luminosa e menor fotoperíodo) (BRONDANI, 2008) e para a estaquia de *P. taeda*, os melhores resultados foram encontrados nas estações mais quentes do ano (maior intensidade luminosa e maior fotoperíodo) (ALCANTARA et al., 2008).

Quanto à qualidade espectral da luz visível, Hartmann et al. (2002) avaliaram que a radiação na zona do laranja-vermelho do espectro pode favorecer o enraizamento de estacas mais do que a zona do espectro azul.

#### **1.1.2.7 Umidade**

A umidade relativa do ar é um fator de grande importância para a propagação, sendo mais crítica em estacas com folhas (ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001). O sucesso no enraizamento depende, em parte, da capacidade do sistema de propagação em proporcionar condições de turgidez ao propágulo até que este forme suas próprias raízes e absorva água (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2009). Desse modo, a umidade do ar ao redor da estaca tem um grande efeito no seu status hídrico (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2009), além de também contribuir para a redução da temperatura do ar e das estacas (HARTMANN; KESTER, 1983). No entanto, o excesso de umidade é prejudicial, por dificultar as trocas gasosas, propiciar o desenvolvimento de doenças, impedir o enraizamento e provocar o apodrecimento dos tecidos (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2009).

#### **1.1.2.8 Fungicidas**

O uso de fungicidas, aplicado na base das estacas, pode favorecer o enraizamento adventício, uma vez que aumenta a resistência das estacas ao ataque de microorganismos patogênicos, fato que reduzirá as perdas por decomposição (HOCKING, 1976; HENRIQUE et al., 2006). Sendo assim, o uso de fungicidas pode

acarretar no aumento da sobrevivência e qualidade do sistema radicular (DAVIS; HAISSIG; SNAKHLA, 1988). O efeito benéfico do uso de fungicida na base das estacas pode ser mais expressivo em plantas que necessitam de um maior período para o enraizamento das estacas, como é o caso das coníferas, por ficarem mais tempo expostas a condições favoráveis ao ataque de patógenos. É importante, entretanto, ressaltar que em algumas espécies, o uso de fungicida pode retardar o desenvolvimento das raízes, porém, as respostas variam muito em função da espécie, do fungicida e da concentração utilizada (HOCKING; THOMAS, 1981).

O efeito benéfico da aplicação de fungicida na base das estacas foi observado no enraizamento adventício de *P. elliotii* e *P. taeda* (REINES; BAMPING, 1960), Guaco (*Mikania laevigata* e *Mikania glomerata*) (LIMA et al., 2001), *Theobroma cacao* (DIAS, 2001), *Pinus taeda* (ALCANTARA et al., 2008), espécies nativas da floresta ombrófila mista do Brasil (INOUE; PUTTON, 2007) e de *Vitellaria paradoxa* (YEBOAH; AKROFI; OWUSU-ANSAH, 2010).

#### **1.1.2.9 Reguladores de crescimento**

A formação de raízes adventícias pode ser influenciada por todas as classes de reguladores de crescimento: auxinas, citocininas, giberelinas, ácido abscísico e etileno, bem como compostos auxiliares e cofactores de enraizamento, tais como inibidores/retardadores do crescimento, poliaminas e compostos fenólicos (HARTMANN et al., 2002).

O modo de ação da maioria dos reguladores de crescimento não está totalmente esclarecido, sabendo-se, no entanto, que muitas destas substâncias atuam por intermédio de um efeito químico e que, independentemente da sua identidade química, concentrações sub-letais promovem o enraizamento, enquanto que elevadas concentrações se tornam inibitórias (WILSON; VAN STADEN, 1990). No entanto, para que ocorra a indução da rizogênese adventícia, tão importante quanto à concentração exógena de reguladores de crescimento aplicada, é necessário à existência de um balanço hormonal endógeno adequado, especialmente entre auxinas, giberelinas e citocininas (GONTIJO et al., 2003).

Dentre os reguladores de crescimento, sabe-se que a auxina é requerida para o processo de iniciação radicular, sendo dependente tanto da aplicação exógena de auxina, como das auxinas endógenas (HENRIQUE et al., 2006). A aplicação de doses exógenas

de auxina pode potencializar a formação de raízes adventícias (WENDLING; XAVIER, 2005; HENRIQUE et al., 2006), melhorando a porcentagem de enraizamento, a velocidade e a qualidade das raízes (HARTMANN et al., 2002). Dentre as auxinas, o ácido indolbutírico (AIB) tem sido utilizado com êxito no enraizamento de diversas espécies (LUDWIG-MÜLLER, 2000; WENDLING; XAVIER, 2005; HENRIQUE et al., 2006), por apresentar-se menos tóxica, em uma maior amplitude de concentrações, quando comparado a outras auxinas (LUDWIG-MÜLLER, 2000). No entanto, além do AIB, o ácido naftalenoacético (ANA) vem apresentando bons resultados de enraizamento em algumas espécies (RAGONEZI et al., 2010). Para espécies de difícil enraizamento, tais como as coníferas, a aplicação exógena de auxina pode compensar um baixo nível endógeno ou mesmo a falta de auxina endógena do material vegetal (WAGNER; FISHER; FANCHER, 1989).

Diversos trabalhos com espécies do gênero *Pinus* ressaltam a importância da aplicação de doses exógenas de auxinas na indução das raízes adventícias, tal como na estaquia de *P. elliottii* e *P. taeda* (REINES; BAMPING, 1960), *P. radiata* (SMITH; THORPE, 1975), *P. caribaea* var. *hondurensis* (HENRIQUE et al., 2006), *P. taeda* (ALCANTARA et al., 2008), *P. elliottii* (TANG; NEWTON, 2007) e de *P. elliottii* var. *elliottii* x *P. caribaea* var. *hondurensis* (HUNT; TRUEMAN; RASMUSSEN, 2011). É importante, entretanto, ressaltar que os resultados obtidos são diretamente relacionados com o tipo/concentração de auxina utilizada e a espécie estudada.

### **1.1.2.10 Maturação e rejuvenescimento**

O ciclo de vida de muitas plantas se relaciona às fases juvenil e adulta (matura), nas quais as características anatômicas, fisiológicas e bioquímicas são distintas (WENDLING; XAVIER, 2001). A maturação em plantas lenhosas é um assunto de extrema importância em vista, principalmente, das variações na capacidade de propagação, nas taxas e formas de crescimento, na qualidade e rapidez na formação de raízes, nas mudanças em características de crescimento, com a transição para o estado maduro (WENDLING; XAVIER, 2001; HAMANN, 1998; VÁLDES; CENTENO; FERNÁNDEZ, 2004a). As mudanças nas características da planta devido à maturação têm sido abordadas por diversos autores, dentre elas: a redução ou perda da competência ao enraizamento, a redução da qualidade do sistema radicular e da velocidade de enraizamento (GREENWOOD, 1987; GREENWOOD; HUTCHISON, 1993;

GREENWOOD, 1995; WENDLING; XAVIER, 2001; VÁLDES; CENTENO; FERNÁNDEZ, 2004a; MITCHELL; ZWOLINSKIB; JONESC, 2004; RAGONEZI et al., 2010), além da redução da sobrevivência e do vigor da muda no campo (GREENWOOD; HUTCHISON, 1993; HAMANN, 1998; HIGASHI et al., 2000; WENDLING; XAVIER, 2001; MITCHELL; ZWOLINSKIB; JONESC, 2004).

Considerando que a propagação de espécies florestais é normalmente realizada por meio do enraizamento de estacas (MITCHELL; ZWOLINSKIB; JONESC, 2004), os efeitos da maturação do material de origem, utilizados para produção das estacas, torna-se um grande obstáculo para o sucesso da propagação de genótipos superiores (VÁLDES; FERNÁNDEZ; CENTENO, 2004b), principalmente, devido a redução da competência ao enraizamento com o aumento da idade ontogenética ou maturação do material de origem (MITCHELL; ZWOLINSKIB; JONESC, 2004; ANDREJOW, 2006; RAGONEZI et al., 2010).

A redução na capacidade de enraizamento típico nas árvores maduras faz com que muitas das espécies arbóreas sejam propagadas facilmente apenas no estágio juvenil, porém, muitas das características importantes são expressas apenas em árvores adultas (RUAUD; PÂQUES, 1995). Para as características de produção de resina, ainda é incerto se a expressão gênica em plantas jovens será expressa da mesma maneira em plantas adultas (FERREIRA; FIOR; GUALTIERI, 2011).

Neste contexto, o rejuvenescimento de células e tecidos é, provavelmente, um dos mais importantes aspectos para o alcance efetivo da clonagem proveniente de material maturo (TITON; XAVIER; OTONI, 2002). O rejuvenescimento pode ser considerado uma forma de reverter as plantas do estado maturo ao juvenil (WENDLING, 2002), por meio do uso de alguns tratamentos ou técnicas (WENDLING; XAVIER, 2001), restaurando, desta maneira, sua competência ao enraizamento (TITON; XAVIER; OTONI, 2002). Entretanto, a redução ou perda da competência ao enraizamento é apenas uma das características do processo de maturação e não deve ser considerada como um marcador de rejuvenescimento em geral (GREENWOOD, 1995).

Segundo Hackett e Murray (1993) e Mitchell, Zwolinskib e Jonesc (2004) as características relacionadas ao estado de maturação são estáveis, porém reversíveis, e podem ser manipuladas de forma independente. No entanto, estas características não são necessariamente alteradas da mesma forma, facilidade e intensidade quando se promove o rejuvenescimento, além de ocorrer em termos relativos e não absolutos (HACKETT;

MURRAY, 1993). Para Ruaud e Pâques (1995) o uso do termo revigoramento é o mais indicado, tendo em vista que o rejuvenescimento ainda não foi realmente demonstrado.

O rejuvenescimento/ revigoramento das plantas pode ser induzido através da enxertia (KAO; HUANG, 1993; RUAUD; PÂQUES, 1995; ALFENAS et al., 2004), enxertia seriada (GREENWOOD, 1987; HUANG et al., 1992; MOON; YI, 1993; RUAUD; PÂQUES, 1995; WENDLING; XAVIER, 2001), podas drásticas e/ou sucessivas (GREENWOOD, 1987; RUAUD; PÂQUES, 1995; WENDLING; XAVIER, 2001; SCALOPPI JUNIOR; JESUS; MARTINS; 2004; NEVES et al., 2006; D´SOUZA et al., 2009) e estaquia seriada (ELDRIDGE et al., 1994). Dentre esses métodos, o rejuvenescimento por propagação seriada consiste em propagar, enxertar ou estaquear, sucessivamente, propágulos adultos até que se obtenha seu rejuvenescimento (ELDRIDGE et al., 1994).

A enxertia é um método onde propágulos maduros são enxertados em partes juvenis de um porta-enxerto, promovendo maior habilidade para o enraizamento das estacas provenientes dos brotos dos enxertos (MENZIES, 1992; KAO; HUANG, 1993). No entanto, na maioria das vezes, a enxertia não induz ao rejuvenescimento e, dessa maneira, mantém as mudas produzidas com a mesma idade fisiológica da planta matriz, inclusive com o estímulo para o florescimento (ALFENAS et al., 2004). O rejuvenescimento, por outro lado, somente é obtido através de enxertia seriada, cujo grau depende do número de vezes que essa operação é repetida e da espécie envolvida (HUANG et al., 1990). Nestes casos, o rejuvenescimento é gradual com a indução a juvenilidade, ocorrendo ao longo de cada re-enxertia, por meio da mudança gradual do padrão de fosforilação do DNA (D´SOUZA et al., 2009).

A enxertia seriada é um método de rejuvenescimento que tem grandes aplicações na área florestal, principalmente em espécies do gênero *Pinus* (WENDLING, 2002; QUADROS, 2009). Entretanto, a enxertia seriada é um método de rejuvenescimento caro, que demanda muito tempo (ELDRIDGE et al., 1994), além de apresentar problemas de incompatibilidade e dificuldade de pegamento em algumas espécies (MOON; YI, 1993; KIM; KWON; MIN, 1993, CORTIZO et al., 2004; WENDLING; PAIVA; GONÇALVES, 2005).

As podas drásticas e ou sucessivas, permitem aumentar a produção de propágulos (NEVES et al., 2006), sem excluir o rejuvenescimento das plantas, que apresentam brotos/estaca com característica visualmente mais jovem (GREENWOOD, 1987; NEVES et al., 2006; D´SOUZA et al., 2009).

## Referências

- ALCANTARA, G.B.; RIBAS, L.L.F.; HIGA, A.R.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C. Efeitos do ácido indolbutírico (AIB) e da coleta de brotações em diferentes épocas do ano no enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v. 36, n. 78, p. 151-156, 2008.
- ALFENAS, A.C.; ZAUZA, E.A.V.; MAFIA, R.G.; ASSIS, T.F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2004. 442 p.
- ANDREJOW, G.M.P. **Minijardim clonal de *Pinus taeda* L.** 2006. 92 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS. **Anuário estatístico da ABRAF**: ano base 2011. Brasília. 2012. 150 p. Disponível em: <<http://www.abraflor.org.br/estatisticas/ABRAF12/ABRAF12-BR.pdf>>. Acesso em: 22 ago. 2012.
- ASSOCIAÇÃO DO RESINADORES DO BRASIL. Disponível em: <<http://www.aresb.com.br/historico/index.html>>. Acesso em: 15 mar. 2011.
- BERTOLOTI, G.; GONÇALVES, A.N. Enraizamento de estacas: especificações técnicas para construção do módulo de enraizamento. **Circular Técnica IPEF**, Piracicaba, n. 94, p. 1-7, 1980.
- BRONDANI, G.E. **Miniestaquia e micropropagação de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage x *Eucalyptus dunnii* Maiden**. 2008. 118 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.
- CÉZAR, T.M. **Organogênese direta de *Pinus taeda* L.** 2011. 104 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.
- CORTIZO, M.; ALONSO, P.; FERNÁNDEZ, B.; RODRÍGUEZ, A.; CENTEN, M.L.; ORDÁS, R.J. Micrografting of mature stone pine (*Pinus pinea* L.) trees. **Annals of Forest Science**, Les Ulis, v. 61, n. 1, p. 843-845, 2004.
- CUNHA, A.C.M.C.M.; PAIVA, H.N.; XAVIER, A.; OTONI, W.C. Papel da nutrição mineral na formação de raízes adventícias em plantas lenhosas. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 58, p. 35-47, 2009a.
- CUNHA, A.C.M.C.M.; PAIVA, H.N.; LEITE, H.G.; BARROS, N.F.E.; LEITE, F.P. Influência do estado nutricional de minicepas no enraizamento de miniestacas de eucalipto. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 4, p. 607-615, 2009b.
- DAVIS, T.D.; HAISSIG, B.E.; SNAKHLA, N. **Adventitious root formation in cuttings**. Portland: Dioscorides Press, 1988. 315 p.
- DIAS, L.A.S. **Melhoramento genético do cacauieiro**. Viçosa: Funape, 2001. 578 p.

DIETERS, M.; BRAUNER, J. Productivity of *Pinus elliottii*, *P. caribaea* and their F1 and F2 hybrids to 15 years in Queensland, Australia. **Annals of Forest Science**, Les Ulis, n. 64, p.691-698, 2007.

D`SOUZA, L.; NIVAS, S.; RAO, A.; HEGDE, S.; D`SILVA, I. Rejuvenation of mature plant tissues. In: KUMAR, A.; SHEKHEWAT, N.S.; SOPORY, S. **Plant tissue culture and molecular markers**. New Delhi: I K International Publishing House, 2009. p. 421-429.

ELDRIDGE, K.; DAVIDSON, J.; HARDWOOD, C.; Van WYK, G. **Eucalypt domestication and breeding**. Oxford: Clarendon Press, 1994. 312 p.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 221 p.

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

FERREIRA, A.G.; FIOR, C.S.; GUALTIERI, S.C.J. Oleoresin yield of *Pinus elliottii* Engelm seedlings. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 23, n. 4, p. 313-316, 2011.

GARRIDO, M.A.O.; FREITAS, J.A; ROCHA, F.T; GARRIDO, L.M.A.G. **Resinagem: manual técnico**. São Paulo: Instituto Florestal, 1998. 23 p.

GIL, L.; PRADA, M.A. Los pinos como especies básicas de la restauración forestal en el medio mediterráneo. **Ecología**, Madrid, v. 1, n 7, p. 113-125, 1993.

GONTIJO, T.C.A., RAMOS, J.D., MENDONÇA, V., PIO, R., NETO, S.E.A., CORRÊA, F.L.O. Enraizamento de diferentes tipos de estacas de aceroleira utilizando ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 290-292, 2003.

GREENWOOD, M.S. Rejuvenation of forest tree. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 6, n. 1, p. 1-12, 1987.

\_\_\_\_\_. Juvenility and maturation in conifers: current concepts. **Tree Physiology**, Oxford, v. 15, n. 1, p. 433-438, 1995.

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

GREENWOOD, M.S.; SAM FOSTER, G.; AMERSON, H.V. Vegetative propagation of Southern pines. In: DURYEA, M.L.; DOUGHERTY, P.M. (Ed.). **Forest regeneration manual**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991. p. 75-86.

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

HAMANN, A. Adventitious root formation in cuttings of loblolly pine (*Pinus taeda* L.): developmental sequence and effects of maturation. **Tree Physiology**, Oxford, v. 12, n. 3, p. 175-180, 1998.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E. **Plant propagation: principles and practices**. 4<sup>th</sup> ed. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1983. 727 p.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIS JUNIOR, F.T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7<sup>th</sup> ed. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 2002. 880 p.

HENRIQUE, A.; CAMPINHOS, E.N.; ONO, E.O.; PINHO, S.Z. Effect of plant growth regulators in the rooting of *Pinus* cuttings. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 49, n. 2, p. 189-196, 2006.

HIGASHI, E.N; SILVEIRA, R.L.V.A; GONÇALO, A.N. *Eucalyptus* vegetative propagation: principles and its evolution in Brazil. **Circular Técnica IPEF**, Piracicaba, v. 192, n. 1, p. 1-14, 2000.

HOCKING, P.J. **Effect of hormone/fungicide combinations on the rooting of cuttings**. 1976. 298 p. Thesis (PhD in Horticulture) - Lincoln College, Canterbury, 1976.

HOCKING, P.J.; THOMAS, M.B. Effect of fungicide and IBA mixtures on the rooting of cuttings of three ornamental shrub species. **New Zealand Journal of Experimental Agriculture**, Griffith, v. 9, n. 3/4, p. 343-349, 1981.

HOFF, R.J.; MCDONALD, G.I. **Rooting of needle fascicles from western white pine seedlings**. Washington: USDA, Forest Service Research, 1968. 6 p. (Note INT, 80).

HORGAN, K.; SKUDDER, D.; HOLDEN, G. Clonal storage and rejuvenation. In: IUFRO '97, 1997, Rotorua. **FRI Bulletin...** Rotorua: Genetics of Radiata Pine, 1997. p. 273-280.

HUANG, L.-C.; CHIU, D.-S.; MURASHIGE, T.; VAN GUNDY, R.; MAHDI, F.M.; NAGAI, K.; ALFARRO, F.-P. Rejuvenation of trees and other perennials for restoration of plant regeneration competence. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos em plantas**. Brasília: ABCTP; EMBRAPA CNPH, 1990. p. 252-264.

HUNT, M.A.; TRUEMAN, S.J.; RASMUSSEN, A. Indole-3-butyric accelerates adventitious root formation and impedes shoot growth of *Pinus elliottii* var. *elliottii* X *Pinus carbaea* var. *hondurensis* cuttings. **New Forests**, Dordrecht, v. 41, n. 3, p. 349-360, 2011.



IONUE, M.T.; PUTTON, V. Macropropagação de 12 espécies arbóreas da floresta ombrófila mista. **Floresta**, Curitiba, v. 37, n. 1, p. 55-61, 2007.

KAO, Y.P.; HUANG, S.G. Cuttings propagation of *Cinnamomum kanehirae*. **Bulletin of the Taiwan Forestry Research Institute**, Taiwan, v. 53, n. 8, p. 371-388, 1993.

KIM, Y.M.; KWON, H.M.; MIN, Y.Y. Grafting propagation for promoting juvenility in *Quercus* species. **Research Report of the Forest Genetics Research Institute**, Suwon, v. 1, n. 29, p. 113-120, 1993.

KIBBLER, H.; JOHNSTON, M.E.; WILLIAMS, R.R. Adventitious root formation in cuttings of *Backhousia citriodora* F. Muell 1. Plant genotype, juvenility and characteristics of cuttings. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 102, n. 1, p. 133-143, 2004.

KOMISSAROV, D.A. **Biological basis for the propagation of woody plants by cuttings**. Jerusalem: Israel Program for Scientific Translations, 1969. 250 p.

KRISTIANSEN, K.; BREDMOSE, N.; NIELSEN, B. Influence of propagation temperature, photosynthetic photon flux density, auxin treatment and cutting position on root formation, axillary bud growth and shoot development in *Schlumbergera* "Russian Dancer". **The Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, Ashford, v. 80, n. 1, p. 297-302, 2005.

LIMA, N.P.; BIASI, L.A.; ZANETTE, F.; NAKASHIMA, T. Produção de mudas por estaquia de duas espécies de guaco. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 106-109, 2001.

LUDWIG-MÜLLER, J. Indole-3-butyric acid in plant growth and development. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 32, n. 1, p. 219-230, 2000.

MALAVASI, U.C. Macropropagação vegetativa em coníferas – perspectivas biológicas e operacionais. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 1, p. 131-135, 1994.

MERGAN, F.; SIMPSON, B.A. Asexual propagation of *Pinus* by rooting needle fascicles. **Silvae Genetica**, Bad Orb, v. 13, n. 5, p. 133-139, 1964.

MITCHELL, R.G.; ZWOLINSKIB, J.; JONESC, N.M. A review on the effects of donor maturation on rooting and field performance of conifer cuttings. **The Southern African Forestry Journal**, Pretoria, v. 201, n. 1, p. 53-63, 2004.

MOKOTEDI, M.E.O.; WATT, M.P.; PAMMENTER, N.W.; BLAKEWAY, F.C. *In vitro* rooting and subsequent survival of two clones of cold-tolerant *Eucalyptus grandis* X *Eucalyptus nitens* Hybrid. **HortScience**, Alexandria, v. 35, n. 6, p. 1163-1165, 2000.

MOON, H.K.; YI, Y.S. Cutting propagation of *Quercus acutissima* clones after rejuvenation through serial grafting. **Annals of Forest Science**, Les Ulis, v. 50, n. 1, p. 314-318, 1993.

- MPATI, K.W. **Response of fever tea (*Lippia javanica*) to fertigation frequency, growth medium and propagation method.** 2006. 87 p. Dissertation (Master in Agriculture) – Faculty of Natural and Agricultural Science, University of Pretoria, Pretoria, 2006.
- NELSON, C.D.; ZENG, L.; HAMAKER, J.M. Propagation of loblolly, slash, and longleaf pine from needle fascicles. **Tree Planters' Notes**, Coeur d'Alene, v. 43, n. 3, p. 67-71, 1992.
- NEVES, T.C.S.; CARPANEZZI, A.A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; MARENCO, R.A. Enraizamento de corticeira-da-serra em função do tipo de estaca e variações sazonais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 12, p. 1699-1705, 2006.
- OLIVEIRA, M.C.; RIBEIRO, J.F.; RIOS, M.N.V.; REZENDE, M.E. **Enraizamento de estacas para produção de mudas de espécies nativas de matas de galeria.** Brasília: Embrapa Cerrados. 2001. 4 p. (EMBRAPA. Recomendação Técnica, 41).
- PANG, Z.-H.; CHEN, D.-X.; ZHAO-ZHI, M.O.; LU, S.-Z.; LIANG Y.-F. Study on the output of resin and its chemical composition from australia pine hybrid. **China Forestry Science and Technology**, Guangxi, v. 23, n. 6, p. 43-57, 2009.
- QUADROS, K.M. **Propagação vegetativa de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire – Aquifoliaceae).** 2009. 58 p. Dissertação (Mestrado em Silvicultura) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.
- RAGONEZI, C.; KLIMASZEWSKA, K.; CASTRO, M.R.; LIMA, M.; OLIVEIRA, P.; ZAVATTIERI, M.A. Adventitious rooting of conifers: influence of physical and chemical factors. **Trees - Structure and Function**, Berlin, v. 24, n. 6, p. 975-992, 2010.
- RASMUSSEN, A.; SMITH, T.E.; HUNT, M.A. Cellular stages of root formation, root system quality and survival of *Pinus elliottii* var. *elliottii* X *Pinus caribaea* var. *hondurensis* cuttings in different temperature environments. **New Forests**, Dordrecht, v. 38, n. 1, p. 285-294, 2009.
- REINES, M.; BAMPING, J.H. Seasonal rooting responses of slash and loblolly pine cuttings. **Journal of Forestry Research**, Harbin, v. 58, n. 8, p. 646-647, 1960.
- ROCHA, P.; NIELLA, F. Efecto de tratamientos inductivos en el enraizamento de estacas de *Pinus elliottii* x *caribaea* y *P. taeda*. In: JORNADAS TÉCNICAS FORESTALES, 9., 2002, Eldorado. **Anais...** Eldorado: INTA, Facultad de Ciencias Forestales, 2002. p. 50-54.
- ROWE, D.B.; BLAZICH, F.A.; RAPER, C.D. Nitrogen nutrition of hedged stock plants of loblolly pine: 1- tissue nitrogen concentrations and carbohydrate status. **New Forests**, Amsterdam, v. 24, p. 39-51, 2002.
- RUAUD, J.N.; PÂQUES, M. Somatic embryogenesis and rejuvenation of trees. In: JAIN, S.; GUPTA, P.; NEWTON, R. (Ed.). **Somatic embryogenesis in woody plants.** Dordrecht: Kluwer Academic, 1995. v. 1, p. 99-118.

SCALOPPI JUNIOR, E.J.; JESUS, N.; MARTINS, A.B.G. Capacidade de enraizamento de variedades de nespereira submetidas à poda de renovação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 61-64, 2004.

SHIMIZU, J.Y. **Teste de progênie de *Pinus elliottii* Engelm. var. *elliottii* de alta e baixa produção de resina – resultados preliminares**. Curitiba: EMBRAPA, Unidade Regional de Pesquisa Florestal Centro-Sul, 1980. 8 p. (Circular Técnica, 2).

SHIMIZU, J.Y.; SPIR, I.H.Z. Seleção de *Pinus Elliottii* pelo valor genético para alta produção de resina. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 38, p. 103-117, 1999.

SMITH, D.R.; THORPE, T.A. Root initiation in cuttings of *Pinus radiata* seedlings: II. Growth regulator interactions. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 26, n.2, p. 193-202, 1975.

TANG, W.; NEWTON, R.J. Micropropagation via organogenesis in slash pine. In: JAIN, S.M.; HAGGMAN, H. (Ed.). **Protocols for micropropagation of woody trees and fruits**. Dordrecht: Springer, 2007. p. 15–22.

TITON, M.; XAVIER, A.; OTONI, W.C. Dinâmica do enraizamento de microestacas e miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 26, n. 6, p. 665-673, 2002.

TOFANELLI, M.B.D.; CHALFUN, N.N.J.; HOFFMANN, A.; CHALFUN, A. Capacidade de enraizamento de estacas lenhosas e semilenhosas de cultivares de pessegueiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 4, p. 840-847, 2001.

TORRES, A.G.M. **Relação entre sazonalidade, desrama e carboidratos no crescimento do eucalipto na propagação vegetativa por miniestaquia**. 2003. 79 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

VALDÉS, A.E.; CENTENO, M.L.; FERNÁNDEZ, B. Age-related changes in the hormonal status of *Pinus radiata* needle fascicle meristems. **Plant Science**, Limerick, v. 167, n. 2, p. 373-378, 2004a.

VALDÉS, A.E.; FERNÁNDEZ, B.; CENTENO, M.L. Hormonal changes throughout maturation and ageing in *Pinus pinea*. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 42, n. 4, p. 335-340, 2004b.

WAGNER, A.M.; FISHER, J.T.; FANCHER, G.A. Vegetative propagation of 10-year old Blue Spruce by stem cuttings. In: FOREST NURSERY ASSOCIATION MEETING, 1989, Bismarck. **Proceedings...** Coeur d'Alene: Intermountain Forest Nursery Association, 1989. p. 70-75.

WENDLING, I. **Rejuvenescimento de clones de *Eucalyptus grandis* por miniestaquia seriada e micropropagação**. 2002. 91p. Tese (Título de *Doctor Scientiae*) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Gradiente de maturação e rejuvenescimento aplicado em espécies florestais. **Floresta e Ambiente**, Viçosa, v. 8, n. 1, p. 187-194, 2001.

\_\_\_\_\_. Influência do ácido indolbutírico e da miniestaquia seriada no enraizamento e vigor de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, Viçosa, v.29, n. 6, p. 921-930, 2005.

WENDLING, I.; PAIVA, H.N.; GONÇALVES, W. **Técnicas de produção de mudas de plantas ornamentais**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2005. v. 3, 223 p.

WILSON, P.J.; VAN STADEN, J. Rhizocaline, rooting co-factors, and the concept of promoters and inhibitors of adventitious rooting : a review. **Annals of Botany**, Oxford, v. 66, n. 1, p. 479-490, 1990.

XAVIER, A. **Silvicultura clonal I**: princípios e técnicas de propagação vegetativa. Viçosa: UFV, 2002. 64 p.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R.L. **Silvicultura clonal**: princípios e técnicas. Viçosa: Ed. UFV, 2009. 272 p.

YEBOAH, J.; AKROFI, A.Y.; OWUSU-ANSAH, F. Influence of selected fungicides and hormone on the rooting success of shea (*Vitellaria paradoxa* gaernt) stem cuttings. **Agriculture and Biology Journal of North America**, Milford, v. 1, n. 3, p. 313-320, 2010.

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



## 2 ESTAQUIA DE *Pinus elliottii* E *Pinus elliottii* X *Pinus caribaea* NO 5º ESTÁGIO DE ENXERTIA SERIADA

### Resumo

O *Pinus elliottii* e o *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* são espécies de grande interesse silvicultural no Brasil. Geralmente, a seleção de genótipos superiores de *Pinus* spp. é realizada na fase adulta, onde a propagação via estaquia é um grande desafio em razão da maturação dos propágulos. Um dos principais efeitos da maturação é a redução ou perda da competência ao enraizamento adventício e redução da qualidade do sistema radicular. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do AIB, do talco com fungicida Cerconil® e da terebentina no enraizamento adventício de estacas de matrizes adultas de *P. elliottii* e *P. elliottii* x *P. caribaea* no 5º estágio de enxertia seriada, antes e depois da realização de podas sucessivas nos enxertos. Para tanto, o trabalho foi dividido em dois experimentos. O primeiro experimento consistiu na avaliação da sobrevivência e do enraizamento adventício de estacas de quatorze matrizes, sendo oito de *P. elliottii* e seis do híbrido. As brotações para a confecção das estacas foram oriundas dos enxertos no 5º estágio de enxertia seriada. Após o preparo das estacas, estas foram submetidas aos seguintes tratamentos: (T1) 10.000 mg L<sup>-1</sup> AIB diluído em 2% de etanol + talco em pó com fungicida; (T2) talco em pó com fungicida + 10.000 mg L<sup>-1</sup> AIB diluído em 2% de etanol; (T3) terebentina + 10.000 mg L<sup>-1</sup> AIB diluído em 2% de etanol + talco em pó com fungicida. O talco foi preparado com 1% de fungicida Cerconil®. Os resultados do presente experimento demonstraram o efeito benéfico da aplicação da terebentina, AIB e talco com fungicida (T3) na sobrevivência e na indução do enraizamento adventício das estacas. O segundo experimento avaliou a sobrevivência, enraizamento adventício, número de raízes e comprimento total de raiz de estacas de quatro matrizes de *P. elliottii* x *P. caribaea*. As brotações para a confecção das estacas foram oriundas dos enxertos no 5º estágio de enxertia seriada, um ano após o início das podas sucessivas. Após o preparo das estacas, estas foram submetidas aos seguintes tratamentos: (T1) terebentina + 10.000 mg L<sup>-1</sup> AIB diluído em 2% de etanol + talco em pó com fungicida; (T2) 2.000 mg L<sup>-1</sup> AIB em pó contendo 4% do fungicida CAPTAN®. Os resultados do experimento demonstraram o efeito benéfico da aplicação de 2.000 mg L<sup>-1</sup> AIB em pó (T2) na sobrevivência, enraizamento e qualidade do sistema radicular das estacas. De maneira geral, os resultados permitem inferir que a enxertia seriada aliada a prática de podas sucessivas pode ser uma excelente ferramenta na produção de mudas clonais de matrizes adultas de *P. elliottii* e *P. elliottii* x *P. caribaea*.

Palavras-chaves: Competência rizogênica; Métodos de rejuvenescimento; Regulador de crescimento

### Abstract

*Pinus elliottii* and *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* play an important role in the Brazilian forest sector. Generally, the selection of superior genotypes in *Pinus* is performed in adult phase, where the propagation is a challenge due to the maturation of cuttings. One of the major effects of aging is the reduction or loss of adventitious rooting competence. Thus, the present study aimed to evaluate the adventitious rooting of mature *P. elliottii* and *P. elliottii* X *caribaea* cuttings of grafts up five sequential

grafting with and without pruning, under the action of AIB, talc with fungicide Cerconil<sup>®</sup> and turpentine. Therefore, the work was divided into two experiments. The first experiment aimed evaluated the cuttings survival and rooting of fourteen genotypes, eight from *P. elliotii* and six from *P. elliotii* X *P. caribaea*. The cuttings were collected of grafts up five sequential grafting. The treatments were: (T1) 10,000 mg L<sup>-1</sup> IBA diluted in 2% ethanol + talc with fungicide; (T2) talc with fungicide + 10,000 mg L<sup>-1</sup> IBA diluted in 2% ethanol; (T3) turpentine + 10,000 mg L<sup>-1</sup> IBA diluted in 2% ethanol + talc with fungicide. Talc powder was prepared with 1% of fungicide Cerconil<sup>®</sup>. The results of this experiment demonstrated the beneficial effect of turpentine, IBA and talc with fungicide (T3) on the survival and adventitious rooting of cuttings. The second experiment evaluated the cutting survival, root growth, root number and total length of root of four genotypes of *P. elliotii* x *P. caribaea*. The cuttings were collected of grafts up five sequential grafting one year after the beginning of successive pruning. The treatments were: (T1) turpentine + 10,000 mg L<sup>-1</sup> IBA diluted in 2% ethanol + talc with fungicide; (T2) 2,000 mg L<sup>-1</sup> IBA powder containing 4 % of fungicide CAPTAN<sup>®</sup>. The results of this experiment showed the beneficial effect of the 2,000 mg L<sup>-1</sup> IBA powder (T2) on the cuttings survival, root growth and root quality. Overall, the results allow us to infer that the serial grafting combined with successive pruning can be an excellent tool in the propagation of mature *P. elliotii* and *P. elliotii* x *P. caribaea*.

Keywords: Adventitious rooting competence, Methods of rejuvenation; Plant growth regulator

## 2.1 Introdução

O Brasil é o segundo maior produtor de resina do mundo, sendo que 64% da produção de resina é proveniente de plantios comerciais de *Pinus elliotii*. Recentemente, a hibração tem sido uma alternativa para o melhoramento genético em diversas espécies. Em *Pinus* spp., o híbrido (*P. elliotii* X *P. caribaea*) vem se tornando um grande atrativo no setor florestal brasileiro, principalmente pela elevada produtividade em biomassa e pelo potencial em produção de resina.

Sendo assim, torna-se de grande interesse o aperfeiçoamento de técnicas de propagação que maximizem a produção comercial de *P. elliotii* var. *elliotii* e *P. elliotii* X *P. caribaea*. Considerando que a propagação de espécies florestais é comumente feita através do enraizamento de estacas (MITCHELL; ZWOLINSKIB; JONESC, 2004), os efeitos da maturação do material de origem, utilizados para produção das estacas, torna-se um grande obstáculo para o sucesso da propagação de genótipos superiores (VALDÉS; FERNÁNDEZ; CENTENO, 2004), principalmente, devido à redução da competência ao enraizamento com o aumento da idade ontogenética ou maturação do material de origem (MITCHELL; ZWOLINSKIB; JONESC, 2004; ANDREJOW, 2006; RAGONEZI et al., 2010). A redução da capacidade de enraizamento típico nas

árvores maduras, faz com que muitas das espécies arbóreas sejam propagadas facilmente apenas no estágio juvenil (RUAUD; PÂQUES, 1995). Entretanto, para as características de produção de resina, ainda é incerto se a expressão gênica em plantas jovens será expressa da mesma maneira em plantas adultas (FERREIRA; FIOR; GUALTIERI, 2011). Sendo assim, a otimização das técnicas de propagação via estaquia aliado ao rejuvenescimento/ revigoração do propágulo é, provavelmente, um dos aspectos mais importantes para o alcance efetivo da clonagem proveniente de material maduro ou adulto (TITON; XAVIER; OTONI, 2002; HUNT et al., 2011).

De acordo com a literatura, aplicações exógenas de reguladores de crescimento promovem efeitos positivos à rizogênese (WENDLING; XAVIER, 2005; HENRIQUE et al., 2006), melhorando a porcentagem de enraizamento, a velocidade e a qualidade das raízes (HARTMANN et al., 2002). A preferência pelo uso do ácido indolbutírico (AIB) em termos operacionais está relacionado a sua menor toxicidade, em uma maior amplitude de concentrações, quando comparado a outras auxinas (LUDWIG-MÜLLER, 2000).

Além disto, o uso de fungicidas, aplicado na base das estacas, pode favorecer o enraizamento adventício, uma vez que aumenta a resistência das estacas ao ataque de microorganismos patogênicos, fato que reduzirá as perdas por decomposição (HOCKING, 1976; HENRIQUE et al., 2006), podendo ainda, acarretar no aumento da sobrevivência e qualidade do sistema radicular (DAVIS; HAISSIG; SNAKHLA, 1988). Porém, alguns fatores podem restringir ou dificultar o processo de enraizamento, incluindo a presença de fibras, bainha esclerenquimática, resinas ou canais de resina (HARTMANN et al., 2002).

Vários são os métodos para reverter ou manter a juvenilidade das plantas, dentre eles, enxertia seriada, podas drásticas ou sucessivas, estaquia seriada e micropropagação (WENDLING; XAVIER, 2001). De acordo com Zaczek et al. (1993) a enxertia seriada pode induzir o rejuvenescimento, aumentando, desta forma, o sucesso de enraizamento. As podas drásticas ou sucessivas, por sua vez, permitem aumentar a produção de propágulos (NEVES et al., 2006), sem excluir o rejuvenescimento das plantas (GREENWOOD, 1987; NEVES et al., 2006; D'SOUZA et al., 2009).

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do AIB, do talco com fungicida Cerconil<sup>®</sup> e da terebentina (solvente natural da resina) no enraizamento adventício de estacas de matrizes adultas de *P. elliottii* e *P. elliottii* X *P. caribaea* propagadas via enxertia seriada.



## 2.2 Material e métodos

### 2.2.1 Experimento 1

#### 2.2.1.1 Caracterização geral do experimento

O trabalho foi conduzido de novembro de 2011 a março de 2012 nas dependências da empresa RESIFLOR parte do grupo Resinas Brasil, situada em Guareí-SP (23°22' S e 48°11' W, 645 m). Segundo classificação de Köppen, o clima da região é subtropical úmido do tipo Cfa.

#### 2.2.1.2 Obtenção das matrizes e constituição do jardim clonal de enxertia seriada

Utilizaram-se ápices de 14 matrizes de *Pinus* spp. com 20 anos de idade, selecionados pela elevada produtividade em resina, sendo oito de *P. elliottii* var. *elliotti* puro (Pee9PCS, Pee16PCS, Pee25PCS, Pee27PCS, Pee30PCS, Pee32PCS, Pee37PCS, Pee50PCS) e seis de *P. elliottii* x *P. caribaea* de um pomar com polinização não controlada (PH2T21, PH24T21, PH25T21, PH33T21, PH86T21, PH171T21). Os ápices adultos foram enxertados em porta enxertos de *P. caribaea* var. *hondurensis* jovem. Realizaram-se cinco estágios de enxertia seriada, sendo uma enxertia por ano. A enxertia seriada foi realizada com brotos coletados dos enxertos do ano anterior. Após a realização do 5º estágio de enxertia seriada, os ápices dos enxertos foram podados para a indução de brotação (Figura 1).



Figura 1 - Jardim clonal de enxertos de *P. elliottii* var. *elliotti* e de *P. elliottii* x *P. caribaea* no 5º estágio de enxertia seriada

### 2.2.1.3 Coleta e preparo dos explantes

Brotações das 14 matrizes do jardim clonal de enxertos no 5º estágio de enxertia seriada foram coletadas, preferencialmente, no período matinal, a fim de reduzir a perda de água por transpiração. Durante todo o processo, as brotações foram conservadas úmidas, a fim de minimizar a perda da turgescência celular dos tecidos vegetais.

Logo após a coleta das brotações (Figura 2 A) foram preparadas as estacas com 12 cm de comprimento sem a remoção da ponteira (gema apical) e quando necessário houve a redução de 50% da área foliar. Na região basal das estacas, foi efetuado um corte em bisel, sendo retiradas as acículas e braquiblastos da metade inferior (Figura 2 B).

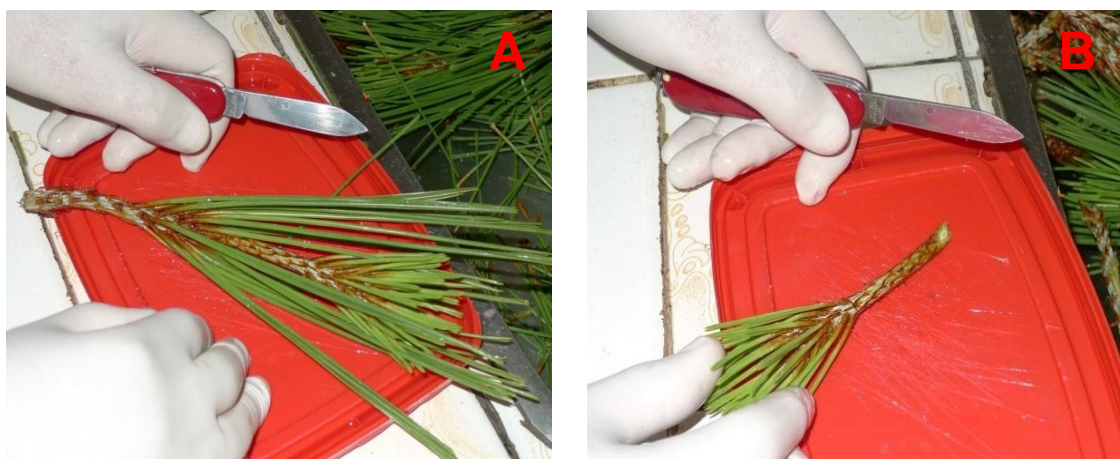


Figura 2 – Preparo das estacas de *P. elliottii* var. *elliottii* e de *P. elliottii* x *P. caribaea*. A: brotação logo após a coleta; B: detalhe da estaca após o preparo e padronização

### 2.2.1.4 Tratamentos e delineamento experimental

Após o preparo das estacas, estas foram submetidas aos seguintes tratamentos: (T1) 10.000 mg L<sup>-1</sup> AIB diluído em 2% de etanol + talco em pó com fungicida (T2) talco em pó com fungicida + 10.000 mg L<sup>-1</sup> AIB diluído em 2% de etanol (T3) terebentina + 10.000 mg L<sup>-1</sup> AIB diluído em 2% de etanol + talco em pó com fungicida. O talco com fungicida foi preparado com 1% de fungicida Cerconil<sup>®</sup>. Cabe destacar que os tratamentos T1 e T2 diferem apenas na sequência de aplicação das substâncias utilizadas.

A base das estacas foram imersas em solução de AIB por 10 segundos e em terebentina por 60 segundos. As estacas foram estaqueadas em tubetes plásticos cônicos

(55 cm<sup>3</sup>), com a inserção de aproximadamente 5 cm da região basal. Os tubetes foram preenchidos com substrato utilizado na produção comercial da empresa (substrato Carolina<sup>®</sup> contendo 160 g de Osmocote<sup>®</sup> formulação 15-09-12 por saco de 45 litros). Após a estaquia, as estacas foram levadas para casa de vegetação.

Devido à reduzida quantidade de brotos utilizaram-se dez repetições para os tratamentos T1, T2 e cinco repetições para o tratamento T3, exceto na matriz PH171T21 onde foram realizadas seis repetições no tratamento T3. Cada repetição foi composta por uma estaca. O experimento foi conduzido no delineamento em blocos ao acaso, sendo três tratamentos (T1, T2 e T3) e quatorze blocos (matrizes).

## **2.2.2. Experimento 2**

### **2.2.2.1 Caracterização geral do experimento**

O trabalho foi conduzido de dezembro de 2012 a março de 2013 nas dependências da empresa RESIFLOR parte do grupo Resinas Brasil, situada em Guareí-SP (23°22' S e 48°11' W, 645 m). Segundo classificação de Köppen, o clima da região é subtropical úmido do tipo Cfa.

### **2.2.2.2 Obtenção das matrizes e constituição do jardim clonal de enxertia seriada**

As 14 matrizes do jardim clonal de enxertos no 5° estágio de enxertia seriada, descrita no item 2.2.1.2, foram podadas, por meio do uso da técnica de podas sucessivas, durante o período de um ano (Figura 3).



Figura 3 – Jardim clonal de enxertos de *P. elliotii* var. *elliotti* e de *P. elliotii* x *P. caribaea*, no 5º de enxertia seriada, um ano após o início das podas sucessivas

Durante este período as podas foram feitas de acordo com a velocidade de crescimento das brotações de cada matriz. Como o objetivo das podas era o de induzir a brotação do meristema dos braquiblastos, as mesmas foram feitas mantendo-se aproximadamente 2/3 do comprimento do broto (Figuras 4 e 5).

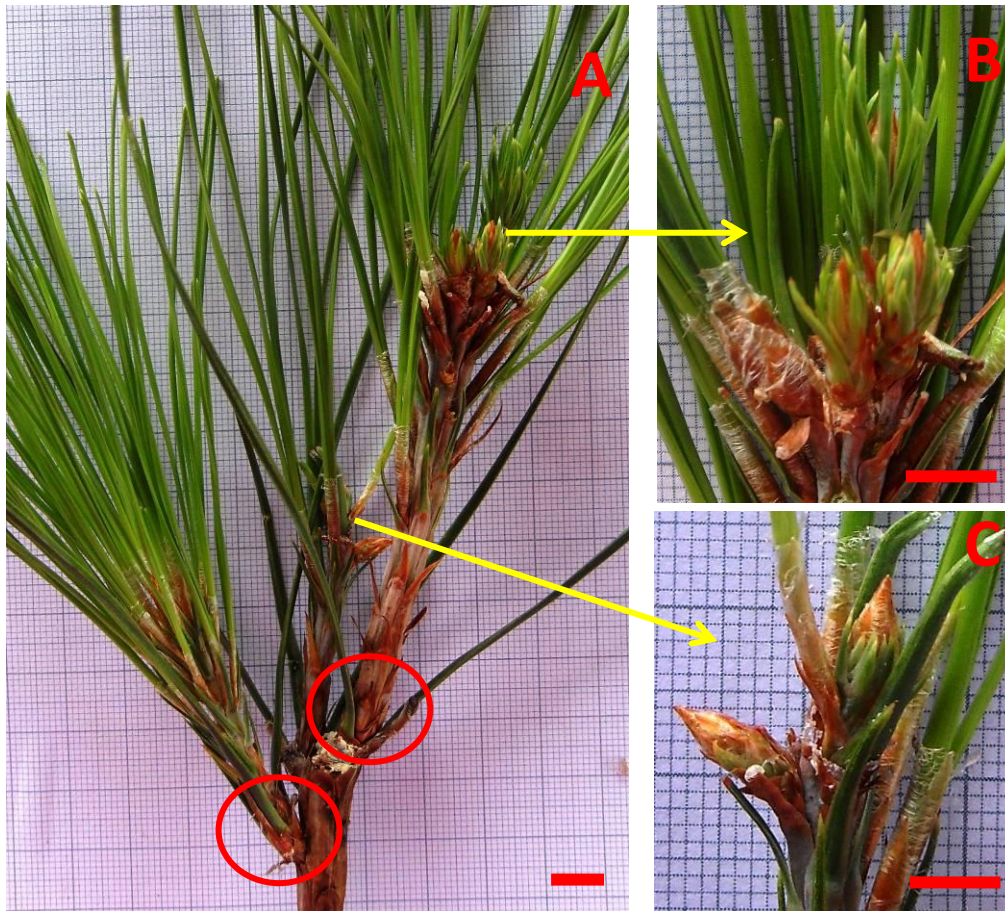


Figura 4 – A: Exemplo das podas sucessivas realizadas nos ramos dos enxertos, círculos vermelhos mostram as acículas remanescentes dos braquiblastos que foram induzidos à brotação; B e C: Detalhe das brotações visualizadas na figura A. Barra = 1,0 cm



Figura 5 – A: Indução da brotação a partir do meristema dos braquiblastos, setas vermelhas mostram o intumescimento do meristema dos braquiblastos; B: Detalhe do início da brotação do meristema do braquiblasto. Barra = 1,0 cm

### 2.2.2.3 Coleta e preparo dos explantes

Das 14 matrizes constituintes do jardim clonal de enxertos no 5° estágio de enxertia seriada, quatro matrizes foram selecionadas para a condução do presente experimento. As matrizes foram selecionadas através da quantidade de brotos e pela elevada produtividade em resina, sendo elas PH24T21, PH33T21, PH86T21, PH171T21 de *P. elliottii* X *P. caribaea*. As brotações foram coletadas, preferencialmente, no período matinal, a fim de reduzir a transpiração das mesmas. Durante todo o processo, as brotações foram conservadas úmidas, a fim de minimizar a perda da turgescência celular dos tecidos vegetais. Logo após a coleta das brotações (Figura 6 A) foram preparadas as estacas com  $8\pm 1$  cm de comprimento sem a remoção da ponteira (gema apical). Na região basal, foi efetuado um corte em bisel, sendo as acículas e braquiblastos do terço inferior retiradas (Figura 6 B).

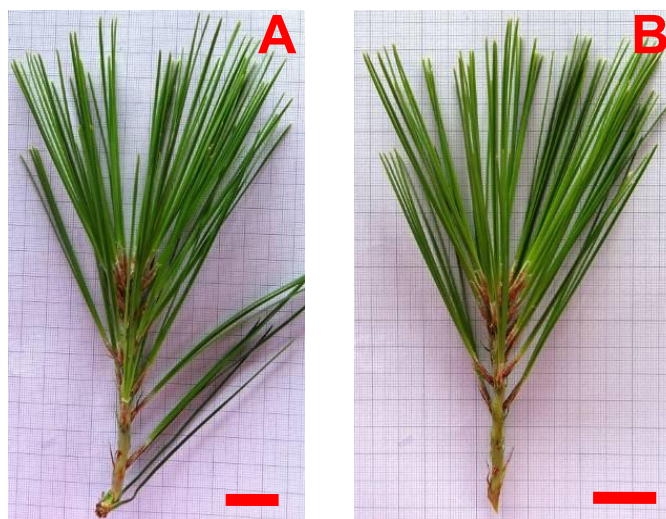


Figura 6 - A: brotação logo após a coletada nos enxertos; B: detalhe da estaca após o preparo e padronização Papel quadriculado de 2,0 cm

### 2.2.2.4 Tratamentos e delineamento experimental

Após o preparo das estacas, estas foram submetidas aos seguintes tratamentos: (T1) terebentina +  $10.000 \text{ mg L}^{-1}$  AIB diluído em 2% de etanol + talco em pó com fungicida (T2)  $2.000 \text{ mg L}^{-1}$  AIB em pó contendo 4% do fungicida CAPTAN®. O tratamento T1 foi o mesmo realizado no experimento 1, através do qual obteve-se os melhores valores de enraizamento. O talco com fungicida foi preparado com 1% de fungicida Cerconil®.

A base das estacas foram imersas em solução de AIB por 10 segundos e em terebentina por 30 segundos, diferente do realizado no experimentos 1, onde foram imersas em terebentina por 60 segundos, por se tratar de um forte solvente e pelas estacas serem mais tenras que as anteriores. As estacas foram estaqueadas em tubetes plásticos cônicos (55 cm<sup>3</sup>), com a inserção de aproximadamente 3 cm da região basal. Os tubetes foram preenchidos com substrato utilizado na produção comercial da empresa (substrato Carolina<sup>®</sup> contendo 160 g de Osmocote<sup>®</sup> formulação 15-09-12 por saco de 45 litros). Após a estaquia, as estacas foram levadas para casa de vegetação.

Foram realizadas três repetições por tratamento, entretanto, devido às brotações desuniformes das matrizes, o número de estacas por repetição variou conforme o material genético e o tratamento (Tabela 1). O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente aleatorizado, sendo dois tratamentos (T1, T2) e quatro matrizes (PH24T21, PH33T21, PH86T21, PH171T21).

Tabela 1 - Número de estaca por repetição (NER) das matrizes PH24T21, PH33T21, PH86T21, PH171T21 nos tratamentos T1 e T2

<b>Matriz</b>	<b>Tratamento</b>	<b>NER</b>
PH24T21	T1	25
PH24T21	T2	25
PH33T21	T1	15
PH33T21	T2	35
PH86T21	T1	10
PH86T21	T2	10
PH171T21	T1	15
PH171T21	T2	35

## 2.2.3 Coleta dos dados

### 2.2.3.1 Temperatura e umidade do ar da casa de vegetação

Em ambos os experimentos, foram coletadas sete medições diárias de temperatura e umidade do ar na casa de vegetação, nos seguintes horários: 08:00, 09:30, 11:00, 12:00, 13:30, 14:30 e 16:30.

### **2.2.3.2 Experimento 1**

As estacas foram mantidas por 120 dias em casa de vegetação. Após este período foram avaliadas a porcentagem de sobrevivência e de enraizamento com raiz visível no fundo do tubete.

### **2.2.3.3 Experimento 2**

As estacas foram mantidas por 100 dias em casa de vegetação. Após este período foram avaliadas a porcentagem de sobrevivência, a porcentagem de enraizamento, o número de raízes e o comprimento total de raiz.

## **2.2.4 Análise estatística dos dados**

Os dados coletados nos dois experimentos foram submetidos a análise da variância e ANOVA ( $p < 0,05$ ) e transformados quando necessário. De acordo com os resultados da ANOVA os dados foram comparados pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). As análises estatísticas foram feitas com auxílio do programa SAS (STATISTIC ANALYSIS SYSTEM).

## **2.3 Resultados e discussão**

### **2.3.1 Experimento 1**

#### **2.3.1.1 Temperatura e umidade relativa do ar da casa de vegetação**

As estacas permaneceram na casa de vegetação durante 120 dias sob temperatura média de 29,5°C e umidade relativa do ar média de 81,5% (Figura 7 A e B). As médias das temperaturas máximas e mínimas foram de 35 e 19,5°C, respectivamente (Figura 7 A), porém, vale ressaltar que não houve medições das temperaturas registradas durante o período noturno. As médias das umidades relativas do ar máximas e mínimas foram de 89 e 72,5%, respectivamente (Figura 7 B). Ao longo do período as temperaturas máximas diárias variaram entre 42- 23°C e as temperaturas mínimas entre 24-12°C (Figura 8 A). A temperatura média diária, por sua vez, variou entre 34- 20°C (Figura 8 A). Já para a análise da umidade relativa do ar, não foram encontrados valores superiores a 95%, com variações das umidades máximas entre 94- 77% (Figura 8 B).



No entanto, notam-se baixos valores de umidade relativa do ar, com umidades mínimas variando entre 90-51% e as umidades médias diárias variando entre 93- 65% (Figura 8 B).

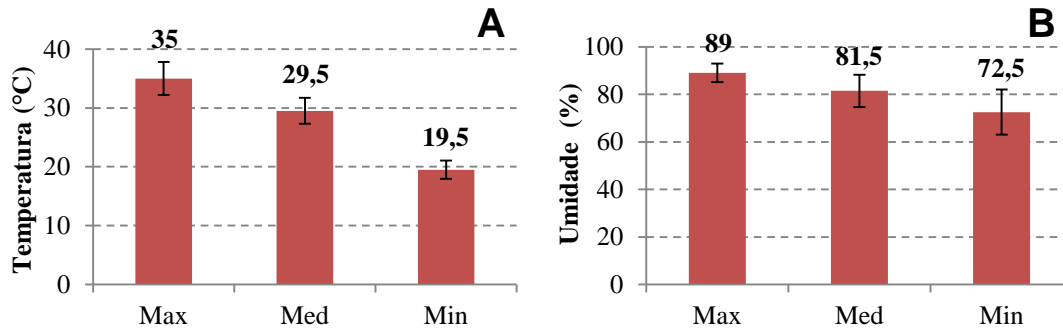


Figura 7 – A: Média das temperaturas máxima (Max), média (Med) e mínima (Min); B: Média das umidades relativas do ar máxima (Max), média (Med) e mínima (Min); medidos na casa de vegetação durante o período de enraizamento das estacas de *P. elliotii* var. *elliotii* e de *P. elliotii* x *P. caribaea*

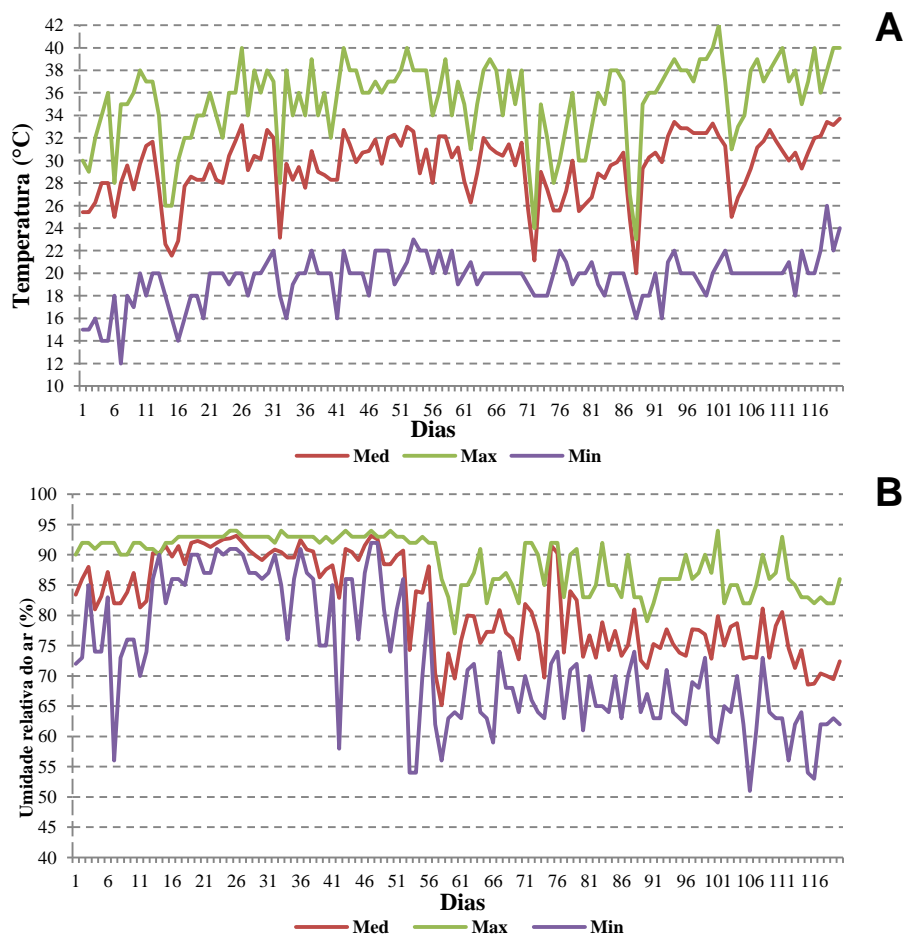


Figura 8 – A: Temperatura média diária (Med), temperatura máxima diária (Max), temperatura mínima diária (Min) da casa de vegetação durante o período de enraizamento das estacas de *P. elliotii* var. *elliotii* e de *P. elliotii* x *P. caribaea*; B: umidade relativa do ar média diária (Med), umidade relativa do ar máxima diária (Max), umidade relativa diária mínima (Min) da casa de vegetação durante o período de enraizamento das estacas de *P. elliotii* var. *elliotii* e de *P. elliotii* x *P. caribaea*

Observou-se que ao longo do dia houve uma correlação entre o aumento da temperatura e o decréscimo da umidade, sendo que os valores mais críticos ocorreram nos períodos entre 11:00 – 14:30 horas, onde as temperaturas médias atingiram valores entre 30- 32°C e a umidade relativa do ar caiu para valores entre 80- 77% (Figura 9).

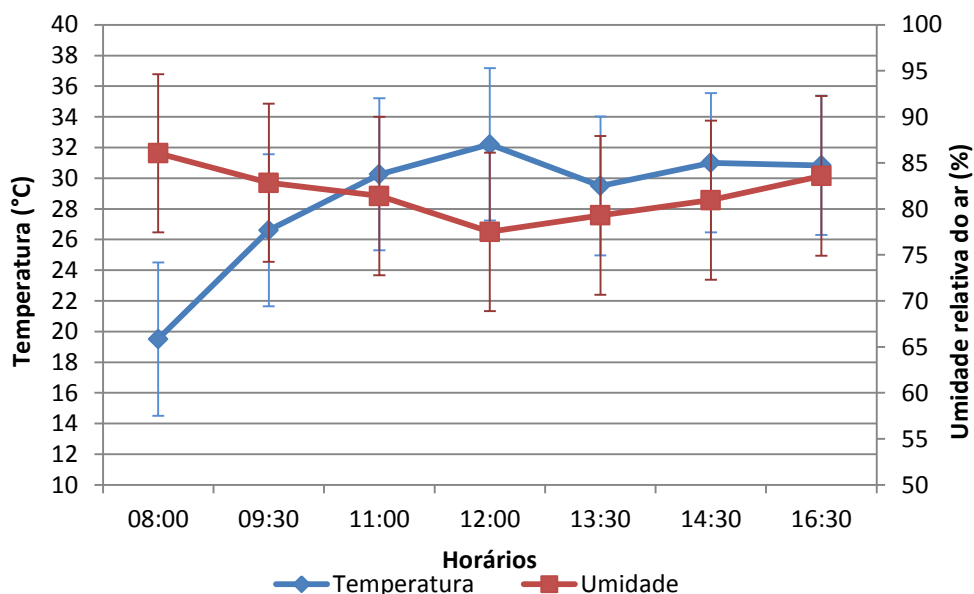


Figura 9 – Média das temperaturas e umidades relativa do ar da casa de vegetação medidas ao longo do dia durante todo o período de enraizamento de *P. elliotii* var. *elliotii* e de *P. elliotii* x *P. caribaea*

A temperatura influencia a mobilidade de nutrientes na solução nutritiva, sítios de absorção da membrana plasmática, velocidade de absorção, translocação e redistribuição nos tecidos bem como, na atividade enzimática (TAIZ; ZEIGER, 2009), afetando dessa forma, todo o metabolismo da planta. Entretanto, apesar de as temperaturas mais elevadas estimularem o desenvolvimento das raízes, é importante que se tenha uma adequada umidade relativa do ar, de modo a favorecer o potencial hídrico das estacas (HARTMANN et al., 2002). Segundo Brondani et al. (2008) a constante elevação da média das temperaturas máximas, acima de 30°C resultou em fatores negativos para o enraizamento das miniestacas de erva mate. Já para o enraizamento de *P. elliotii* var. *elliotii* x *P. caribaea* var. *hondurensis*, observou-se maior sobrevivência e maior enraizamento das estacas mantidas a temperatura constante de 25°C e 30°C do que as que permaneceram sob temperatura constante de 35°C; sendo o enraizamento inibido sob temperaturas constante de 15°C (RASMUSSEN; SMITH; HUNT, 2009). Além disto, os mesmos autores destacaram a importância de se manter a umidade

relativa do ar entre 80- 100%. Para Xavier, Wendling e Silva (2009) a umidade relativa do ar da casa de vegetação deve se manter acima de 80%, entretanto, a saturação do ar deve ser evitada.

Com base no exposto, reforça-se que a temperatura e a umidade relativa do ar durante o sistema de produção de mudas de *P. elliotii* e do híbrido devem ser controladas com maior rigor em busca da otimização do sistema de produção de mudas clonais, sobretudo nos períodos mais quentes do dia e nas épocas mais quentes do ano.

### 2.3.1.2 Sobrevivência e enraizamento das estacas de *Pinus elliotii* e de *Pinus elliotii* x *Pinus caribaea*

De acordo com a análise de variância não houve efeito significativo dos tratamentos para a porcentagem de sobrevivência das estacas, apresentando, entretanto, diferença significativa entre os blocos (matrizes) (Tabela 2). Os dados de porcentagem de enraizamento não atenderam às pressuposições da análise de variância, inclusive após a transformação, motivo pelo qual foi apresentada somente a análise descritiva das médias (Tabela 3).

Tabela 2 – Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência das estacas de *P. elliotii* e do *P. elliotii* x *P. caribaea*

Causas da variação	GL	Quadrados Médios de Sobrevivência (%) <sup>(1)</sup>
Tratamentos	2	0,015 <sup>ns</sup>
Bloco	10	0,131 <sup>*</sup>
Resíduo	20	0,0240
CVexp (%)	-	19,22

<sup>ns</sup> - Valor não significativo a 5% de probabilidade de erro pelo Teste F e <sup>\*</sup> Valor significativo a 5% de probabilidade de erro, respectivamente pelo Teste F. (1) Dados transformados por  $P\%+0,5$  onde  $P\% = P/100$  ( $P$  = valor de porcentagem de sobrevivência). Tratamentos = T1, T2 e T3, Bloco= matrizes, GL = Graus de Liberdade e CVexp = Coeficiente de Variação Experimental

A porcentagem média de sobrevivência das estacas apresentou maior valor no tratamento T3 (34%), seguido do tratamento T1 (31%), sendo o menor valor observado no T2 (28%) (Tabela 3 e Figura 10). A porcentagem média de enraizamento foi positivamente relacionada com a média de sobrevivência, sendo o T3 (9%) com maior valor, seguido do T1 (6%) e o T2 o menor valor com 0,72% de enraizamento (Tabela 3

e Figura 10). As maiores porcentagens de enraizamento no tratamento T3 (Tabela 3 e Figura 10) demonstram o efeito benéfico da aplicação de terebentina na base das estacas, visto que a terebentina é um solvente natural da resina, a qual impregna a base da estaca, podendo restringir ou retardar a rizogênese (HARTMANN et al., 2002).

Nota-se, entretanto, que apenas a matriz PH24T21 apresentou competência ao enraizamento quando submetida ao tratamento T2 (Tabela 3), indicando que o uso de talco com fungicida quando aplicado após a solução líquida de AIB, como ocorrido no T1 e T3, é mais eficiente para a indução do enraizamento. O efeito benéfico da aplicação de fungicida tem sido reportado no enraizamento adventício de estacas de coníferas (REINES; BAMPING, 1960; ALCANTARA et al., 2008), por possibilitar maior resistência das estacas ao ataque de microrganismos patogênicos durante o período de enraizamento (HENRIQUE et al., 2006).

Além disto, observou-se que as porcentagens de sobrevivência e enraizamento adventício variaram de acordo com o genótipo das matrizes (Tabelas 2 e 3). A variação das porcentagens de sobrevivência foi de 0-70%, 0-60% e 0-100%, para os tratamentos T1, T2 e T3, respectivamente. Por sua vez, as porcentagens de enraizamento variaram de 0-30% para o T1, 0-10% para o T2 e 0-50% para o T3 (Tabela 3). Para Kibbler, Johnston e Williams (2004) o genótipo é considerado um dos fatores críticos para a propagação de algumas espécies florestais, tendo em vista que o enraizamento adventício é genótipo-dependente (MALAVASI, 1994; MOKOTEDI et al., 2000). Por exemplo, a média de enraizamento de clones de *Pinus elliottii* jovem variou de 47 a 4% em experimentos de campo e de 63% a 19% em experimentos na casa de vegetação (BOWER; BUJITENEN, 1977).

A análise da Tabela 3 nos mostra também que os valores de sobrevivência (SOBRE) e enraizamento (ENR) foram maiores para as matrizes do híbrido (PH), sendo que, dentre as matrizes do *P. elliottii* (Pee), o enraizamento adventício foi induzido apenas na matriz Pee27PCS no tratamento T3. Mitchell; Zwolinskib e Jonesc (2004) em seu trabalho de revisão, não encontraram trabalhos com estaquia de *Pinus elliottii* var. *elliottii* x *Pinus caribaea* var. *hondurensis* e *Pinus elliottii* var. *elliottii* adultos. Já para a estaquia de material jovem foram encontrados em literatura valores de enraizamento adventício de 100% para o híbrido (HUNT; TRUEMAN; RASMUSSEN, 2011) e de 77% para o *P. elliottii* (FRAMPTON; HODGES, 1989).

Tabela 3 – Porcentagem de sobrevivência e enraizamento das estacas de matrizes adultas de *P. elliottii* e *P.elliottii* X *P. caribaea*

Genótipo	Porcentagem de sobrevivência			Porcentagem de Enraizamento		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3
Pee9PCS	0	0	0	0	0	0
Pee16PCS	50	60	25	0	0	0
Pee25PCS	10	0	0	0	0	0
Pee27PCS	10	20	20	0	0	20
Pee30PCS	70	60	60	0	0	0
Pee32PCS	50	40	60	0	0	0
Pee37PCS	20	40	40	0	0	0
Pee50PCS	0	9	17	0	0	0
MPee	26,3	28,6	27,8	0	0	2,5
PH2T21	10	10	60	20	0	40
PH24T21	20	20	20	0	10	20
PH25T21	40	60	40	10	0	0
PH33T21	36	20	20	0	0	0
PH86T21	50	20	20	20	0	0
PH171T21	70	30	100	30	0	50
MPH	37,7	26,7	43,3	13,3	1,7	18,3
MED	31,2	27,8	34,4	5,72	0,72	9,28

O valor destacado em azul representa a única matriz de *Pinus elliottii* que induziu enraizamento e o valor destacado em vermelho representa a única matriz que induziu o enraizamento quando submetida ao tratamento T2. MPee = média do *P. elliottii*; MPH = média do *P. elliottii* X *P. caribaea* e MED = média geral das 14 matrizes

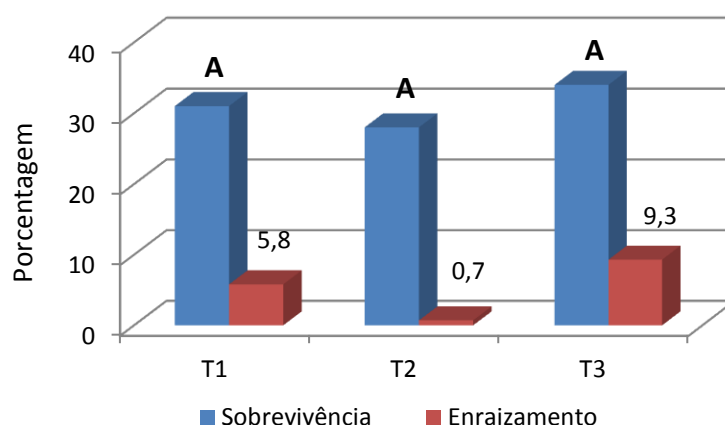


Figura 10 – Porcentagens médias de sobrevivência e enraizamento das estacas de *P. elliottii* e do híbrido em relação aos tratamentos T1, T2 e T3. Médias seguidas por mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro

De maneira geral, as porcentagens de enraizamento não foram superiores a 50% nas 14 matrizes avaliadas, possivelmente devido à elevada idade ontogenética (maturação) das estacas, fato que reduz a competência ao enraizamento adventício

(MITCHELL; ZWOLINSKIB; JONESC, 2004; RAGONEZI et al., 2010). Para Geenwood (1995) as características do tecido adulto (maturo) podem persistir anos após a enxertia, mesmo quando os brotos destes enxertos são re-expostos em um porta-enxerto juvenil (enxertia seriada). Por exemplo, em *Quercus rubra* L., foi observado que uma ou duas enxertias seriadas apresentou pouco efeito no enraizamento adventício (ZACZEK et al., 1993). Já para o *Pinus radiata*, são necessários no mínimo três enxertias seriadas para que se atinja resultados satisfatórios de enraizamento (HORGAN, 1987). Segundo Hare (1978) menos de 1% das estacas de *Pinus elliottii* com 12-14 anos de idade enraizaram.

Neste contexto, nossos resultados (Figura 11) demonstram o efeito de cinco enxertias seriadas na competência ao enraizamento de algumas das matrizes estudadas, promovendo parcialmente o revigoramento e a habilidade de enraizamento das estacas. Ao mesmo tempo, é possível que sejam necessários mais estágios de enxertia seriada para que indicações definitivas de rejuvenescimento/ revigoramento sejam manifestadas.

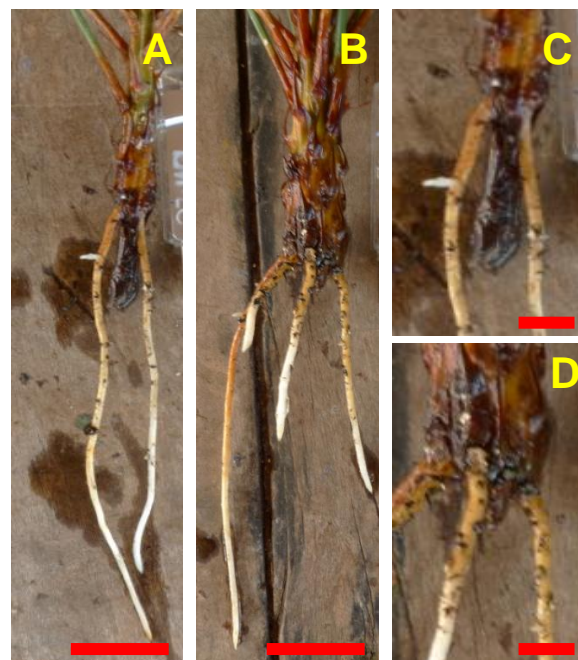


Figura 11 – Enraizamento observado nas estacas do experimento 1. A e B: raízes adventícias; C e D: detalhe da porção basal da estaca, onde iniciou-se o enraizamento. Barra = 2,0 cm

## 2.3.2 Experimento 2

### 2.3.2.1 Temperatura e umidade relativa do ar da casa de vegetação

As estacas permaneceram na casa de vegetação durante 100 dias sob temperatura média de 30°C e umidade relativa do ar média de 78% (Figura 12 A e B). As médias das temperaturas máximas e mínimas foram de 36 e 21,5°C, respectivamente (Figura 12 A), porém, vale ressaltar que não houve medições das temperaturas registradas durante o período noturno. As médias das umidades relativas do ar máximas e mínimas foram de 86,5 e 61%, respectivamente (Figura 12 B). Ao longo do período as temperaturas máximas diárias variaram entre 41- 23°C e as temperaturas mínimas entre 29-17°C (Figura 12 A). A temperatura média diária, por sua vez, variou entre 35- 21°C (Figura 12 A). Já para a análise da umidade relativa do ar, não foram encontrados valores superiores a 95%, com variações das umidades máximas entre 95- 73% (Figura 12 B). No entanto, notam-se baixos valores de umidade relativa do ar, com umidades mínimas variando entre 74- 43% e as umidades médias diárias variando entre 86- 60% (Figura 8 B).

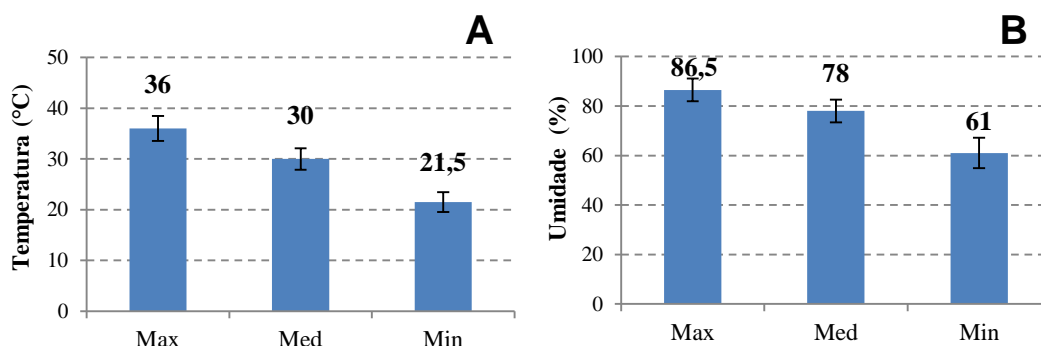


Figura 12 – A: Média das temperaturas máxima (Max), média (Med) e mínima (Min); B: Média das umidades relativa do ar máxima (Max), média (Med) e mínima (Min); medidos na casa de vegetação durante o período de enraizamento das estacas de *P. elliotii* var. *elliotii* e de *P. elliotii* x *P. caribaea*

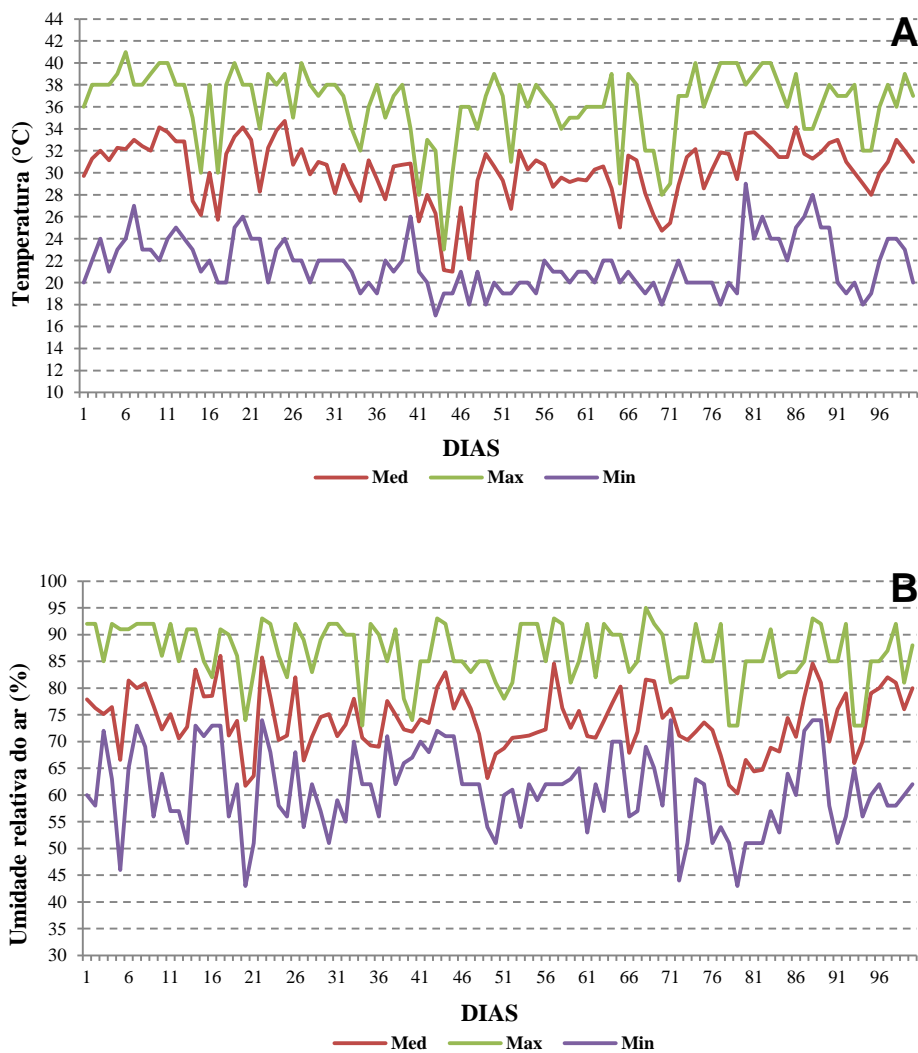


Figura 13 – A: Temperatura média diária (Med), temperatura máximiária (Max), temperatura mínima diária (Min) da casa de vegetação durante o período de enraizamento das estacas; B: umidade relativa do ar média diária (Med), umidade relativa do ar máxima diária (Max), umidade relativa diária mínima (Min) da casa de vegetação durante o período de enraizamento das estacas de *P. elliotii* var. *elliotii* e de *P. elliotii* x *P. caribaea*

Assim como no experimento 1, observou-se que ao longo do dia houve uma correlação entre o aumento da temperatura e o decréscimo da umidade, sendo que os valores mais críticos ocorreram nos períodos entre 11:00 – 14:30 horas, onde as temperaturas médias atingiram valores entre 34- 33°C e a umidade relativa do ar caiu para valores entre 73- 69% (Figura 14).



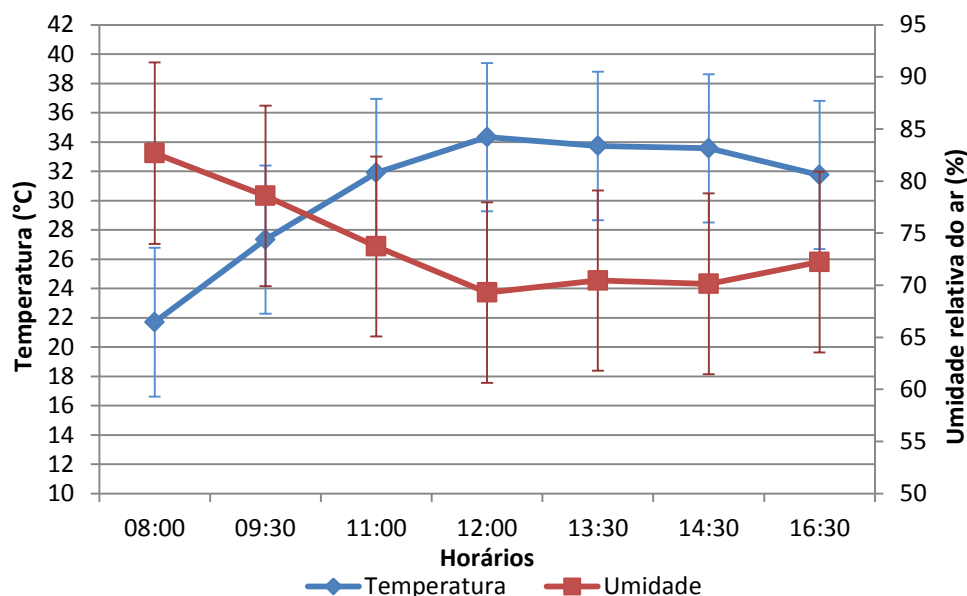


Figura 14 – Média das temperaturas e umidades relativa do ar da casa de vegetação medidas ao longo do dia durante todo o período de enraizamento de *P. elliotii* var. *elliotii* e de *P. elliotii* x *P. caribaea*

O comportamento das temperaturas e umidades relativas do ar da casa de vegetação diferiu entre os dois experimentos (Figuras 8 e 13). De acordo com a análise das Figuras 7 e 12, observa-se que houve um ligeiro aumento das médias de temperatura e uma ligeira redução das médias de umidade relativa do ar da casa de vegetação durante a realização do presente experimento em relação ao experimento 1. Além disto, a relação entre a temperatura e a umidade relativa do ar observada ao longo do dia, ocorreu de forma mais acentuada no presente experimento (Figuras 9 e 14). As diferenças encontradas se devem as variações climáticas entre os dois períodos de experimento, uma vez que a estação do ano foi a mesma e não houve diferença de manejo da casa de vegetação. Esses resultados reforçam a necessidade do controle diário das temperaturas e umidades relativas do ar da casa de vegetação, a fim de se otimizar e viabilizar a propagação das estacas de *P. elliotii* e de *P. elliotii* x *P. caribaea*.

### 2.3.2.2 Sobrevivência, enraizamento, número de raízes e comprimento total de raiz das estacas de *Pinus elliotii* X *Pinus caribaea*

Os dados de porcentagem de sobrevivência (SOBRE), porcentagem de enraizamento (ENR), número de raízes (NR) e comprimento total de raiz (CTR) não atenderam às pressuposições da análise de variância, inclusive após a transformação, motivo pelo qual foi apresentada somente a análise descritiva das médias (Tabela 4).

Tabela 4 – Porcentagem média de sobrevivência (SOBRE) e enraizamento (ENR) e média do número de raízes (NR) e comprimento total de raiz (CTR) das matrizes de *P. elliotii* X *P. caribaea* em relação aos tratamentos T1 e T2

Matriz	Tratamento	SOBRE (%)	ENR (%)	NR	CTR (cm)
PH24T21	T1	0	0	0	0
PH24T21	T2	0	0	0	0
PH33T21	T1	0	0	0	0
PH33T21	T2	1,91	0	0	0
PH86T21	T1	0	0	0	0
PH86T21	T2	0	0	0	0
PH171T21	T1	0	0	0	0
PH171T21	T2	24,77	19,03	2,73	18,07

Nota-se que os valores das quatro variáveis analisadas (SOBRE, ENR, NR e CTR) foram nulos para o tratamento T1, nas três matrizes estudadas (Tabela 4). A ausência de respostas observada pode estar relacionada ao fato das estacas terem sido expostas a uma elevada concentração de auxina exógena (10.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB), uma vez que excessivas concentrações de auxina podem inibir o desenvolvimento radicular, além de causar necrose na base da estaca, ocasionando sua morte (DÍAZ-SALA et al., 1996). Entretanto, vale ressaltar que este tratamento apresentou bons resultados no experimento 1, com enraizamento adventício variando entre 50- 20% de acordo com a matriz (Tabela 3). Um dos fatores que pode ter influenciado na resposta morfogênica das estacas a este tratamento, foi a diferença de temperatura e umidade relativa do ar da casa de vegetação entre os dois períodos (conforme descrito no item 2.3.2.1).

Além das condições da casa de vegetação, as características morfológicas das estacas (tipo de estaca) podem também ter influenciado na sobrevivência e no enraizamento, tendo em vista que as estacas do presente experimento eram mais tenras que as estacas utilizadas no experimento 1, ou seja, menos lignificadas e com menores diâmetros. Esta diferença morfológica já era esperada, uma vez que os brotos/estacas induzidos através das podas drásticas ou podas sucessivas apresentam-se com características visualmente mais jovens (GREENWOOD, 1987; NEVES et al., 2006; D'SOUZA et al., 2009). Segundo Brondani (2012) as concentrações de AIB para induzir a rizogênese variam de acordo com cada situação de manejo no viveiro e tipo de material genético. A temperatura ótima para favorecer o enraizamento adventício, por sua vez, é dependente das peculiaridades das plantas, do período de propagação, do grau de lignificação das estacas e das condições climáticas do local (KOMISSAROV, 1969). Brondani et al. (2010) sugeriram que as elevadas temperaturas podem induzir estresse

nas miniestacas de *Eucalyptus benthamii* X *Eucalyptus dunnii*, ocasionando a mortalidade em razão da presença de um incipiente sistema radicial e tendo em vista a maior sensibilidade das mesmas às condições ambientais nos primeiros dias após a entrada em casa de vegetação.

A literatura reporta que as estacas mais grossas e mais lignificadas apresentam maior potencial de enraizamento devido ao maior teor de carboidratos (OLIVEIRA et al., 2001; FACHINELLO et al., 2005), tendo em vista que o enraizamento adventício demanda grande gasto de energia (HARTMANN et al., 2002) e os carboidratos são utilizados como fontes de energia e de carbono para a síntese de outras substâncias essenciais à formação de raízes (MALAVASI, 1994). Para Araujo, Matos Filho e Azevedo (2009) o reduzido enraizamento das miniestacas herbáceas (menos lignificadas) de pinhão-manso foi possivelmente, decorrente do menor teor de reservas, da baixa relação C/N e da sua maior facilidade de desidratação e morte.

O tratamento T2, entretanto, induziu o enraizamento apenas na matriz PH171T21 (Tabela 4), confirmando assim, a forte influência do genótipo na competência ao enraizamento adventício. Segundo Moon e Yi (1993) as diferenças entre os clones de *Quercus acutissima* adulto são críticas para propagação por estaquia, visto a existência de variações de até 80% de enraizamento entre os clones estudados. Já para estaquia de *P. elliotii* var. *elliotii* x *P. caribaea* var. *hondurensis* jovem os valores de enraizamento podem variar de 45 à 95% de acordo com o material genético (RASMUSSEN; SMITH; HUNT, 2009). As médias da porcentagem de enraizamento, número de raízes e comprimento total de raiz para este tratamento foram de 19%, 2,7 e 18 cm, respectivamente (Tabela 4). Corroborando com os nossos resultados, foram encontrados valores de 18% de enraizamento adventício para o *Pinus banksiana* de 30 anos de idade (BROWNE; DAVIDSON; GOBIN, 1996) e de 11% para *Pinus radiata* de 26 anos de idade (FIELDING, 1954). Entretanto, segundo Mitchell, Zwolinskib e Jonesc (2004), não foram encontrados em literatura trabalhos com estaquia de *P. elliotii* e de *P. elliotii* x *P. caribaea* adultos.

Além dos variáveis analisadas (SOBRE, ENR, NR e CTR), a análise visual das mudas permitiu inferir que houve a formação de um sistema radicular bem desenvolvido com raízes secundárias e terciárias e sem presença de calo na base das estacas (Figura 15). Segundo Mohammed e Vidaber (1990) a qualidade do sistema radicular envolve o número e comprimento de raízes e ausência de calo na base da estaca, sendo que todos estes fatores irão influenciar no desenvolvimento da muda no campo.

Entretanto, observa-se que o sistema radicular das mudas do presente experimento foi mais desenvolvido que as do experimento 1, devido ao fato das raízes principais serem mais finas e pela presença de raízes secundárias e terciárias (Figuras 15 e 11). Este resultado pode ser explicado pelo rejuvenescimento/ revigoramento das estacas decorrente das podas sucessivas realizadas nos enxertos, tendo em vista que o material rejuvenescido (ou pelo menos parcialmente rejuvenescido) apresenta maior competência ao enraizamento adventício e melhor qualidade do sistema radicular (MITCHELL; ZWOLINSKIB; JONESC, 2004; RAGONEZI et al., 2010). Segundo Ruaud e Pâques (1995) o objetivo do rejuvenescimento é reverter a programação ontogenética e restaurar as competências morfogênicas do estágio juvenil das plantas, permitindo assim a propagação de plantas maduras como se fossem juvenis.

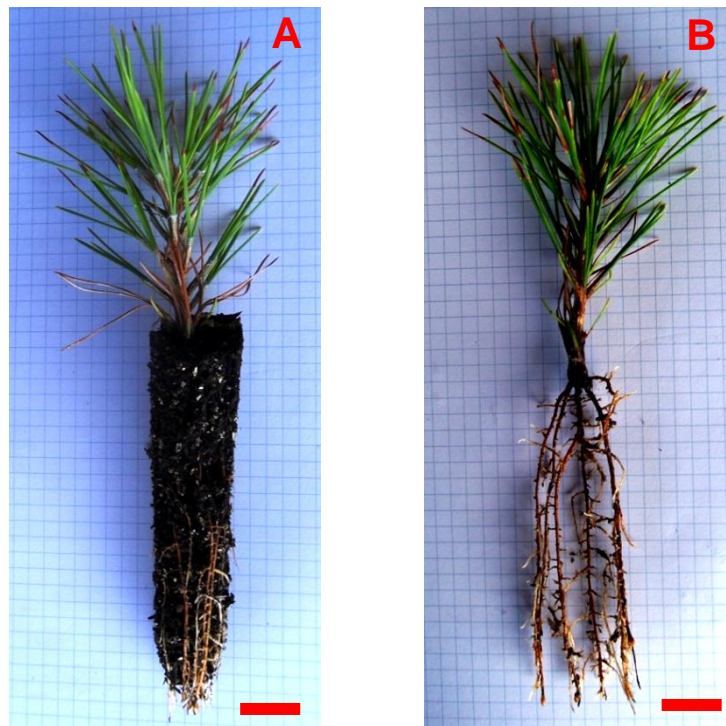


Figura 15 – A: Muda de *P. elliottii* X *P. caribaea* da matriz PH171T21 no torrão; B: detalhe do sistema radicular. Barra = 4,0 cm

De maneira geral, os resultados demonstraram o efeito de cinco enxertias seriadas e das podas sucessivas na competência ao enraizamento e na qualidade do sistema radicular, promovendo parcialmente o revigoramento e a competência ao enraizamento das estacas. Sendo assim, pode-se inferir que a enxertia seriada aliada a

prática de podas sucessivas pode ser uma excelente ferramenta na indução do rejuvenescimento/ revigoramento de espécies do gênero de *Pinus*.

Futuros trabalhos devem ser realizados, intensificando as podas sucessivas e ampliando a gama de concentrações do hormônio AIB. Além disto, avaliar o enraizamento das brotações destas estacas, por meio do uso da técnica de estaquia seriada.

## 2.4 Conclusões

A aplicação de AIB 10.000 mg L<sup>-1</sup> diluído em 2% de álcool combinado com a aplicação de terebentina e talco com fungicida propiciou os melhores índices de enraizamento das estacas de *P. elliottii* e de *P. elliottii* x *P. caribaea* nas condições experimentais do experimento 1;

A aplicação de AIB em pó na concentração de 2.000 mg L<sup>-1</sup> com 4% de fungicida CAPTAN<sup>®</sup> propiciou os melhores índices de enraizamento, número de raízes e comprimento total de raiz das estacas de *P. elliottii* x *P. caribaea* nas condições experimentais do experimento 2;

## Referências

ALCANTARA, G.B.; RIBAS, L.L.F.; HIGA, A.R.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C. Efeitos do ácido indolbutírico (AIB) e da coleta de brotações em diferentes épocas do ano no enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v. 36, n. 78, p. 151-156, 2008.

ANDREJOW, G.M.P. **Minijardim clonal de *Pinus taeda* L.** 2006. 92 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

ARAUJO, E.C.E.; MATOS FILHO, C.H.A.M.; AZEVEDO, D.M.P. Interação entre doses de reguladores e consistência do ramo no enraizamento de miniestacas de Pinhão-manso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS DE PINHÃO MANSO, 1., 2009, Brasília. **Anais...** Brasília: EMBRAPA, 2009. p. 2-5.

BOWER, R.; VAN BUIJTENEN, J. P. A comparison of rooting success of greenhouse-grown and field-grown slash pine cuttings. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 7, n. 1, p. 183-185, 1977.

BRONDANI, G.E. **Miniestaquia e micropropagação de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage x *Eucalyptus dunnii* Maiden.** 2008. 118 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

\_\_\_\_\_. **Aspectos morfofisiológicos na clonagem de *Eucalyptus benthamii***. 2012. 186 p. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

BRONDANI, G.E.; WENDLING, I.; GROSSI, F.; DUTRA, L.F.; ARAUJO, M.A. Miniestaqueia de *Eucalyptus benthamii* x *Eucalyptus dunnii*: (II) Sobrevivência e enraizamento de miniestacas em função das coletas e estações do ano. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 20, n. 3, p. 453-465, 2010.

BROWNE, R.D., DAVIDSON, C.G.; GOBIN, S.M. Effects of crown position and plant age on rooting of Jack Pine long shoot cuttings. **Tree Planters' Notes**, Coeur d'Alene, v. 47, n. 1, p. 100-104, 1996.

DAVIS, T.D.; HAISSIG, B.E.; SNAKHLA, N. **Adventitious root formation in cuttings**. Portland: Dioscorides Press, 1988. 315 p.

DÍAZ-SALA, C.; HUTCHISON, K.W.; GOLDFARB, B.; GREENWOOD, M.S. Maturation-related loss in rooting competence by loblolly pine stem cuttings: the role of auxin transport, metabolism and tissue sensitivity. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 97, p. 481-490, 1996.

D`SOUZA, L.; NIVAS, S.; RAO, A.; HEGDE, S.; D`SILVA, I. Rejuvenation of mature plant tissues. In: KUMAR, A.; SHEKHEWAT, N.S.; SOPORY, S. **Plant tissue culture and molecular markers**. New Delhi: I K International Publishing House, 2009. p. 421-429.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 221 p.

FERREIRA, A.G.; FIOR, C.S.; GUALTIERI, S.C.J. Oleoresin yield of *Pinus elliottii* Engelm seedlings. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 23, n. 4, p. 313-316, 2011.

FIELDING, J.M. **Methods of raising Monterey pine from cuttings in the open nursery**. Canberra: Forestry and Timber Bureau, 1954. 29 p.

FRAMPTON, L.J.; HODGES, J.F. Nursery rooting of cuttings from seedlings of slash and loblolly pine. **Southern Journal of Applied Forestry**, Bethesda, v. 13, n. 1, p. 127-32, 1989.

GREENWOOD, M.S. Rejuvenation of forest tree. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 6, n.1, p. 1-12, 1987.

\_\_\_\_\_. Juvenility and maturation in conifers: current concepts. **Tree Physiology**, Oxford, v. 15, n. 1, p. 433-438, 1995.

HARE, R.C. Effect of shoot girdling and season on rooting of slash pine cuttings. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 8, n. 1, p. 14-16, 1978.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIS JUNIOR, F.T.; GENEVE, R.L. **Plant propagation: principles and practices**. 7<sup>th</sup> ed. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 2002. 880 p.

HENRIQUE, A.; CAMPINHOS, E.N.; ONO, E.O.; PINHO, S.Z. Effect of plant growth regulators in the rooting of *Pinus* cuttings. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 49, n.2, p. 189-196, 2006.

HOCKING, P.J. **Effect of hormone/fungicide combinations on the rooting of cuttings**. 1976. 298 p. Thesis (PhD in Horticulture) - Lincoln College, Canterbury, 1976.

HORGAN, K.; SKUDDER, D.; HOLDEN, G. Clonal storage and rejuvenation. In: IUFRO '97, 1997, Rotorua. **FRI Bulletin...** Rotorua: Genetics of Radiata Pine, 1997. p. 273-280.

HUNT, M.A.; TRUEMAN, S.J.; RASMUSSEN, A. Indole-3-butyric accelerates adventitious root formation and impedes shoot growth of *Pinus elliottii* var. *elliottii* X *Pinus carbaea* var. *hondurensis* cuttings. **New Forests**, Dordrecht, v. 41, n. 3, p. 349-360, 2011.

KIBBLER, H.; JOHNSTON, M.E.; WILLIAMS, R.R. Adventitious root formation in cuttings of *Backhousia citriodora* F. Muell 1. Plant genotype, juvenility and characteristics of cuttings. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 102, n. 1, p. 133-143, 2004.

KOMISSAROV, D.A. **Biological basis for the propagation of woody plants by cuttings**. Jerusalem: Israel Program for Scientific Translations, 1969. 250 p.

LUDWIG-MÜLLER, J. Indole-3-butyric acid in plant growth and development. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 32, n. 1, p. 219-230, 2000.

MALAVASI, U.C. Macropropagação vegetativa em coníferas – perspectivas biológicas e operacionais. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 1, p. 131-135, 1994.

MITCHELL, R.G.; ZWOLINSKIB, J.; JONESC, N.M. A review on the effects of donor maturation on rooting and field performance of conifer cuttings. **The Southern African Forestry Journal**, Pretoria, v. 201, n. 1, p. 53-63, 2004.

MOHAMMED, G.H; VIDAVER, W.E. The influence of acclimatization treatment and plantlet morphology on early greenhouse-performance of tissue-cultured Douglas fir [*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco]. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 21, n. 2, p. 111-117, 1990.

MOKOTEDI, M.E.O.; WATT, M.P.; PAMMENTER, N.W.; BLAKEWAY, F.C. *In vitro* rooting and subsequent survival of two clones of cold-tolerant *Eucalyptus grandis* X *Eucalyptus nitens* Hybrid. **HortScience**, Alexandria, v. 35, n. 6, p. 1163-1165, 2000.

MOON, H.K.; YI, Y.S. Cutting propagation of *Quercus acutissima* clones after rejuvenation through serial grafting. **Annals of Forest Science**, Les Ulis, v. 50, n. 1, p. 314-318, 1993.

NEVES, T.C.S.; CARPANEZZI, A.A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; MARENCO, R.A. Enraizamento de corticeira-da-serra em função do tipo de estaca e variações sazonais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 12, p. 1699-1705, 2006.

OLIVEIRA, M.C.; RIBEIRO, J.F.; RIOS, M.N.V.; REZENDE, M.E. **Enraizamento de estacas para produção de mudas de espécies nativas de matas de galeria**. Brasília: Embrapa Cerrados. 2001. 4 p. (EMBRAPA. Recomendação Técnica, 41).

RAGONEZI, C.; KLIMASZEWSKA, K.; CASTRO, M.R.; LIMA, M.; OLIVEIRA, P.; ZAVATTIERI, M.A. Adventitious rooting of conifers: influence of physical and chemical factors. **Trees - Structure and Function**, Berlin, v. 24, n. 6, p. 975-992, 2010.

RASMUSSEN, A.; SMITH, T.E.; HUNT, M.A. Cellular stages of root formation, root system quality and survival of *Pinus elliottii* var. *elliottii* X *Pinus caribaea* var. *hondurensis* cuttings in different temperature environments. **New Forests**, Dordrecht, v. 38, n. 1, p. 285-294, 2009.

REINES, M.; BAMPING, J.H. Seasonal rooting responses of slash and loblolly pine cuttings. **Journal of Forestry Research**, Harbin, v. 58, n. 8, p. 646-647, 1960.

RUAUD, J.N.; PÂQUES, M. Somatic embryogenesis and rejuvenation of trees. In: JAIN, S.; GUPTA, P.; NEWTON, R. (Ed.). **Somatic embryogenesis in woody plants**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1995. v. 1, p. 99-118.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848 p.

TITON, M.; XAVIER, A.; OTONI, W.C. Dinâmica do enraizamento de microestacas e miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 26, n. 6, p. 665-673, 2002.

VALDÉS, A.E.; FERNÁNDEZ, B.; CENTENO, M.L. Hormonal changes throughout maturation and ageing in *Pinus pinea*. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 42, n. 4, p. 335-340, 2004.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Gradiente de maturação e rejuvenescimento aplicado em espécies florestais. **Floresta e Ambiente**, Viçosa, v. 8, n. 1, p. 187-194, 2001.

\_\_\_\_\_. Influência do ácido indolbutírico e da miniestaquia seriada no enraizamento e vigor de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 6, p. 921-930, 2005.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R.L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. Viçosa: Ed. UFV, 2009. 272 p.



ZACZEK, J.J.; STEINER, K.C.; HEUSER, C.W. Vegetative propagation of mature and juvenile northern red oak. In: CENTRAL HARDWOOD FOREST CONFERENCE, 9., 1993, West Lafayette. **Proceedings...** West Lafayette: North Central Forest Experiment Station, 1993. p. 210-221.

### 3 ESTAQUIA DE *Pinus elliottii* NO 2º ESTÁGIO DE ENXERTIA SERIADA COM PODAS SUCESSIVAS

#### Resumo

O *Pinus elliottii* var. *elliottii* é uma espécie de grande importância econômica, devido principalmente a sua produtividade e qualidade de resina. Atualmente, o maior desafio para produção de mudas clonais desta espécie, refere-se a redução ou perda da competência ao enraizamento adventício de matrizes adultas selecionadas pela elevada produção de resina. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a sobrevivência, enraizamento adventício, número de raízes e comprimento total de raiz de estacas de uma matriz adulta de *P. elliottii*. As brotações para a confecção das estacas foram coletadas de enxertos no 2º estágio de enxertia seriada com um ano de podas sucessivas. Após o preparo das estacas, estas foram submetidas aos seguintes tratamentos: (T1) 5.000 mg L<sup>-1</sup> AIB líquido + talco com fungicida; (T2) terebentina + 5.000 mg L<sup>-1</sup> AIB líquido + talco com fungicida; (T3) terebentina + 2.000 mg L<sup>-1</sup> paclobutrazol + 5.000 mg L<sup>-1</sup> AIB líquido + talco com fungicida; (T4) Fertimaxi2000®; (T5) terebentina + Fertimaxi2000®; (T6) terebentina + 2.000 mg L<sup>-1</sup> paclobutrazol + Fertimaxi2000®. O talco foi preparado com 1% de fungicida Cerconil®. Os resultados demonstraram o efeito benéfico da aplicação da terebentina, e paclobutrazol na sobrevivência e na qualidade do sistema radicular das estacas. A enxertia seriada aliada a prática de podas sucessivas podem ser utilizadas para indução do rejuvenescimento, promovendo parcialmente o revigoramento e a habilidade de enraizamento das estacas de *P. elliottii* adulto.

Palavras-chaves: Propagação; Regulador de crescimento; Rejuvenescimento

#### Abstract

*Pinus elliottii* var. *elliottii* plays a great economic importance in the forest sector, mainly due to its productivity and resin quality. The maturation is a challenge for the propagation by cuttings of this specie, due to the reduction or loss of the rooting competence with age increasing of the donor plant, selected by the high resin production. Thus, the present work aimed to evaluate the cuttings survival, root growth, root number and total length of root in mature *P. elliottii*. The cuttings were collected of grafts up two sequential grafting one year after the beginning of successive pruning. The treatments were: (T1) 5,000 mg L<sup>-1</sup> IBA + talc with fungicide; (T2) turpentine + 5,000 mg L<sup>-1</sup> IBA + talc with fungicide; (T3) turpentine + 2,000 mg L<sup>-1</sup> paclobutrazol + 5,000 mg L<sup>-1</sup> IBA + talc with fungicide; (T4) Fertimaxi2000®; (T5) turpentine + Fertimaxi2000®; (T6) turpentine + 2.000 mg L<sup>-1</sup> paclobutrazol + Fertimaxi2000®. Talc was prepared with 1% of fungicide Cerconil®. The results demonstrated the beneficial effect of turpentine and paclobutrazol in cuttings survival and root quality. The serial grafting combined with successive pruning can be used to induce rejuvenation, promoting partially the reinvigoration and rooting ability of mature *P. elliottii* cuttings.

Keywords: Propagation; Plant growth regulator; Rejuvenation

### 3.1 Introdução

Espécies do gênero *Pinus* são largamente utilizadas em reflorestamento no Brasil. Atualmente, a maioria das áreas reflorestadas é plantada com espécies de *Pinus* spp. originadas do sul dos Estados Unidos da América, sendo o *P. taeda* e *P. elliottii* as espécies mais expressivas (ALCANTARA et al., 2008). A madeira de *P. elliotti* pode ser usada em serrarias, laminadoras e indústrias de aglomerados e sua resina é muito utilizada nas indústrias de tintas, colas e borracha sintética. Em função da sua importância econômica existe interesse nos programas de melhoramento genético e propagação desta espécie. Considerando que a propagação de espécies florestais é comumente feita através da estaquia (MITCHELL; ZWOLINSKIB; JONESC, 2004), os efeitos da maturação do material de origem, utilizados para produção das estacas, torna-se um grande obstáculo para o sucesso da propagação de genótipos superiores (VALDÉS; FERNÁNDEZ; CENTENO, 2004), principalmente, devido a redução da competência ao enraizamento com o aumento da idade ontogenética ou maturação do material de origem (RAGONEZI et al., 2010). O rejuvenescimento/ revigoração das plantas é comumente induzido através da enxertia, enxertia seriada e podas drásticas e/ou podas sucessivas (WENDLING; XAVIER, 2001).

A aplicação de auxina exógena pode proporcionar além de um maior índice de enraizamento, maior velocidade de formação, qualidade e uniformidade do sistema radicular (HARTMANN et al., 2002), sendo que o ácido indolbutírico (AIB) é o mais utilizado nos sistemas de produção em larga escala de mudas clonais (LUDWIG-MÜLLER, 2000). Além disto, a aplicação de alguns retardantes de crescimento, junto com a auxina, tem sido usado para melhorar os índices de enraizamento de diversas espécies (WIESMAN; LAVEE, 1995; HENRIQUE et al., 2006). Retardantes de crescimento derivados do triazol (por exemplo, o paclobutrazol) induzem o enraizamento por serem substâncias inibidoras da síntese de giberelina, visto que elevados níveis de giberelina podem atuar como um inibidor do enraizamento (HARTMANN et al., 2002). Entretanto, alguns fatores podem restringir ou dificultar o processo de enraizamento, incluindo a presença de fibras, bainha esclerenquimática, resinas ou canais de resina (HARTMANN et al., 2002).

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o enraizamento adventício de estacas matrizes adultas de *Pinus elliottii* adulto no 2º estágio de enxertia seriada com um ano de podas sucessivas, sob a ação do AIB, da terebentina (solvente natural da resina) e do retardante de crescimento paclobutrazol.

## 3.2 Material e métodos

### 3.2.1 Caracterização geral do experimento

O trabalho foi conduzido de dezembro de 2012 a março de 2013 nas dependências da empresa RESIFLOR parte do grupo Resinas Brasil, situada em Guareí-SP (23°22' S e 48°11' W, 645 m). Segundo classificação de Köppen, o clima da região é subtropical úmido do tipo Cfa.

### 3.2.2 Obtenção das matrizes e constituição do jardim clonal de enxertia seriada

Utilizaram-se ápices da matriz Pee53PCS de *Pinus elliottii* de 20 anos de idade selecionada pela elevada produtividade em resina. Os ápices adultos foram enxertados em porta enxertos de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* jovem. A segunda enxertia foi realizada com brotos coletados dos enxertos do ano anterior. Entretanto, devido a problemas de incompatibilidade na enxertia, não foi possível o pegamento dos enxertos do 3º estágio de enxertia seriada. Sendo assim, podas sucessivas foram realizadas nos enxertos do 2º estágio durante o período de um ano, com a finalidade de aumentar o número de brotos e induzir o rejuvenescimento/revigoramento do material vegetal (Figura 1 A). A frequência das podas variou de acordo com a velocidade de crescimento das brotações ao longo do ano. Como o objetivo das podas era o de induzir a brotação do meristema dos braquiblastos (Figura 1 B e Figura 2), as mesmas foram feitas mantendo-se aproximadamente 2/3 do comprimento do broto (Figura 1 B).



Figura 1 - A: Jardim clonal no 2º estágio de enxertia seriada um ano após o início das podas sucessivas; B: Detalhe dos brotos provenientes dos meristemas dos braquiblastos, as setas vermelhas indicam os brotos em desenvolvimento e as setas pretas os brotos podados

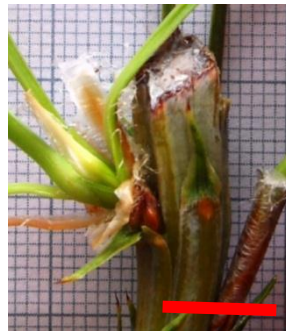


Figura 2 - Desenvolvimento do meristema quiescente do braquiblasto. Barra = 1,0 cm

### 3.2.3 Coleta e preparo dos explantes

Brotações dos enxertos da matriz Pee53PCS foram coletadas, preferencialmente, no período matinal, a fim de reduzir a evapotranspiração. Durante todo o processo, as brotações foram conservadas úmidas, a fim de minimizar a perda da turgescência celular dos tecidos vegetais.

Logo após a coleta das brotações (Figura 3A) foram preparadas as estacas com  $8 \pm 1$  cm de comprimento sem a remoção da ponteira (gema apical) e com a redução de 50% da área foliar. Na região basal, foi efetuado um corte em bisel, sendo os braquiblastos e as acículas da base retiradas (Figura 3B).

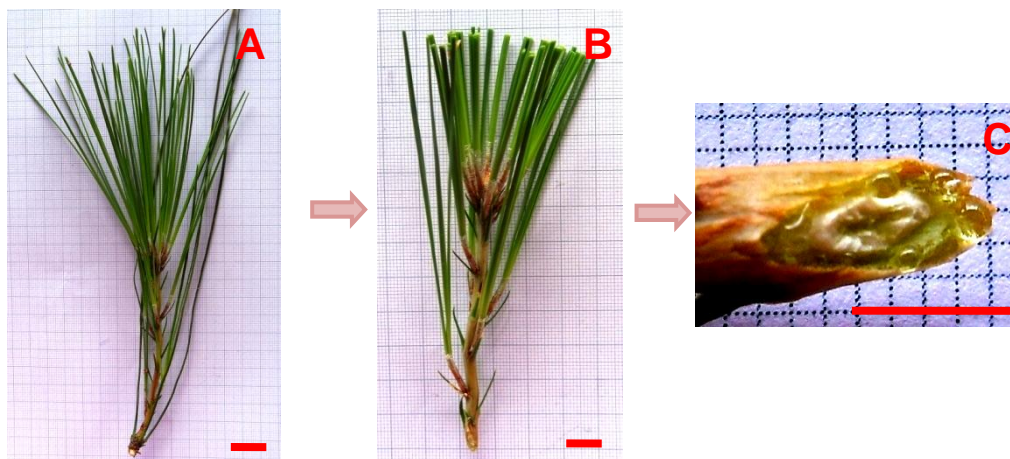


Figura 3- A: Brotação logo após a coleta; B: Estaca após o preparo e padronização; C: Exsudação de resina após o corte em bisel na base da estaca. A e B: Barra = 1,0 cm; C: Barra de 0,5 cm

### 3.2.4 Tratamentos e delineamento experimental

Após o preparo das estacas, estas foram submetidas aos seguintes tratamentos: (T1) 5.000 mg L<sup>-1</sup> AIB líquido + talco com fungicida; (T2) terebentina + 5.000 mg L<sup>-1</sup> AIB líquido + talco com fungicida; (T3) terebentina + 2.000 mg L<sup>-1</sup> paclobutrazol + 5.000 mg L<sup>-1</sup> AIB líquido + talco com fungicida; (T4) Fertimaxi2000<sup>®</sup>; (T5) terebentina + Fertimaxi2000<sup>®</sup>; (T6) terebentina + 2.000 mg L<sup>-1</sup> paclobutrazol + Fertimaxi2000<sup>®</sup>.

O AIB líquido utilizado nos tratamentos T1, T2 e T3 foi preparado em solução hidroalcoólica com 50% de etanol (50% água:etanol v/v) e o talco com fungicida foi preparado com 1% de fungicida Cerconil<sup>®</sup>. O Fertimaxi2000<sup>®</sup> é um fertilizante em pó que apresenta a seguinte formulação: 2000 mg L<sup>-1</sup> AIB com 19,1% Ca, 1,3% Fe, 1,8% S e 2,7% Zn. A base das estacas foram imersas em solução de AIB por 10 segundos, em terebentina por 30 segundos e em paclobutrazol por 60 segundos. As estacas foram estaqueadas em tubetes plásticos cônicos (55 cm<sup>3</sup>), com a inserção de aproximadamente 3 cm da região basal. Os tubetes foram preenchidos com substrato utilizado na produção comercial da empresa (substrato Carolina<sup>®</sup> com 160 g de Osmocote<sup>®</sup> formulação 15-09-12 por saco de 45 litros). Após a estaquia, as estacas foram levadas para casa de vegetação. Foram feitas quatro repetições por tratamento, contendo 11 estacas por repetição. O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente aleatorizado.

### 3.2.5 Coleta dos dados

As estacas foram mantidas por 100 dias em casa de vegetação sob temperatura de 30± 2,1°C e umidade relativa do ar de 78± 4,6%. Os valores de temperatura e

umidade relativa do ar da casa de vegetação foram medidos às 08:00, 09:30, 11:00, 12:00, 13:30, 14:30 e 16:30 horas. Após este período foi avaliado a porcentagem de sobrevivência, a porcentagem de enraizamento, o número de raízes e o comprimento total de raiz.

### 3.2.6 Análise estatística dos dados

Os dados coletados foram submetidos a análise da variância e ANOVA ( $p < 0,10$  e  $p < 0,05$ ). De acordo com os resultados da ANOVA os dados foram comparados pelo teste de Tukey ( $p < 0,10$  e  $p < 0,05$ ). As análises estatísticas foram feitas com auxílio do programa SAS (STATISTIC ANALYSIS SYSTEM).

### 3.3 Resultados e discussão

Os valores de sobrevivência (SOBRE), enraizamento (ENR), número de raízes (NR) e comprimento total de raiz (CTR) foram nulos para os tratamentos T1, T2, T3 e T4. A ausência de resposta de sobrevivência e iniciação radicular das estacas de *Pinus elliottii* da matriz Pee53PCS aos T1 a T3, pode estar relacionada ao fato das estacas terem sido expostas a uma concentração inadequada de auxina exógena ( $5.000 \text{ mg L}^{-1}$  de AIB). Segundo Hartmann et al. (2002) nem sempre a aplicação de auxinas exógenas é eficaz, por não se saber se a dosagem aplicada é a ideal ou se existe a presença de algum inibidor do enraizamento na estaca. Além disto, o nível crítico da aplicação de auxinas exógenas encontra-se muito próximo a fitotoxicidade, sendo que, concentrações abaixo deste limite não são eficazes e concentrações acima deste limite não só impedem o enraizamento adventício, como podem causar danos morfológicos generalizados na estaca (JANICK, 1966). O tratamento T4 também apresentou valores nulos para as quatro variáveis analisadas (SOBRE, ER, NR e CTR), entretanto, diferentemente dos primeiros tratamentos (T1, T2 e T3), este teve a aplicação do fertilizante Fertimaxi2000<sup>®</sup>. A ausência de resposta neste tratamento pode ser explicada pelo efeito benéfico da interação combinada ou não da terebentina e do paclobutrazol presentes nos tratamentos T5 e T6, indicando que a aplicação isolada deste fertilizante não foi suficiente para a indução do enraizamento das estacas de *Pinus elliottii* da matriz Pee53PCS. Segundo Brondani (2012) é necessário estabelecer concentrações ideais de aplicação exógena de AIB de acordo com cada situação de manejo no viveiro e tipo de material genético.

Os valores nulos dos tratamentos T1 a T4 não atenderam às pressuposições da análise de variância, inclusive após a transformação, motivo pelo qual apenas os tratamentos T5 e T6 foram submetidos à análise estatística dos dados coletados.

De acordo com a análise de variância houve efeito significativo dos tratamentos T5 e T6 para a sobrevivência das estacas a 5% de probabilidade de erro no teste F e para o enraizamento das estacas a 10% de probabilidade do teste F (Tabela 1).

Tabela 1 - Resumo da análise de variância para a porcentagem de sobrevivência (SOBRE) e porcentagem de enraizamento (ENR) das estacas de *Pinus elliottii* da matriz Pee53PCS

Causas da variação	GL	Quadrados médios de SOBRE (%)	Quadrados Médios de ENR (%)
Tratamentos	1	369,9*	372,6**
Resíduo	6	40,9	69,1
CVexp (%)	-	13,4	33,2

\* Valor significativo a 5% de probabilidade de erro pelo Teste F e \*\* Valor significativo a 10% de probabilidade de erro pelo Teste F. Tratamentos = T5 e T6; GL = Graus de Liberdade e CVexp = Coeficiente de Variação Experimental

Os valores de sobrevivência (54%) e de enraizamento (32%) das estacas no tratamento T6 foram significativamente superiores aos valores do tratamento T5, 40% e 18% respectivamente (Figura 4). Estes resultados sugerem o efeito benéfico da aplicação do fertilizante Fertimaxi2000<sup>®</sup> combinado com a terebentina e o paclobutrazol na indução ao enraizamento das estacas da matriz Pee53PCS, possivelmente pelo sinergismo obtido através da aplicação conjunta destas três substâncias. O efeito benéfico da aplicação de terebentina, que é um solvente natural de resina, pode ser explicado pela dissolução da resina impregnada na base da estaca, uma vez que a resina pode restringir ou reduzir o enraizamento adventício (HARTMANN et al., 2002). O paclobutrazol, por sua vez, tem efeito sobre o balanço híbrido das estacas e tem sido descrito como promotor de enraizamento em diversas espécies (STEFFENS; WANG, 1986). Por exemplo, o uso de paclobutrazol na concentração de 100mg L<sup>-1</sup> proporcionou um acréscimo de aproximadamente 10% no enraizamento de estacas de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* jovens (HENRIQUE et al., 2006).

Apesar das diferenças encontradas, podemos inferir que os tratamentos aplicados (T5 e T6) apresentaram bons resultados de SOBRE e ENR, tendo em vista que a maturação do tecido acarretada na redução ou mesmo perda da competência ao enraizamento (MITCHELL; ZWOLINSKIB; JONESC, 2004; RAGONEZI et al., 2010)



e que não foram encontrados em literatura trabalhos com estaquia de *Pinus elliottii* adulto (MITCHELL; ZWOLINSKIB; JONESC, 2004). Por exemplo, Hare (1978) observou um enraizamento de menos de 1% das estacas de *Pinus elliottii* de 12 e 14 anos de idade.

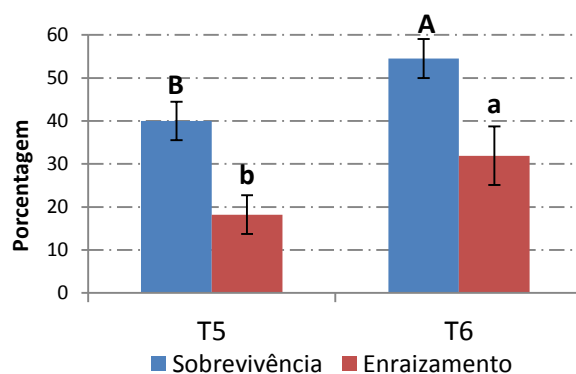


Figura 4 - Valores médios de sobrevivência e enraizamento das estacas de *Pinus elliottii* da matriz Pee53PCS em relação aos tratamentos T5 e T6. Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas para valores de sobrevivência diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade e, médias seguidas por diferentes letras minúsculas para valores de enraizamento diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 10% de probabilidade de erro. Dados apresentados como: média  $\pm$  desvio padrão

O número de raízes (NR) e comprimento total da raiz (CTR) não variaram significativamente entre os tratamentos (Tabela 2), apresentando os valores de NR: 2,1 e 2,21 e CTR: 21,2 cm e 19,4 cm para os tratamentos T5 e T6, respectivamente (Figura 5). Além das variáveis analisadas (NR, CTR), observou-se a formação de um sistema radicular bem desenvolvido, com raízes secundárias e terciárias e visualmente sem presença de calo na base das estacas (Figuras 6 e 7), fato que poderá favorecer o desenvolvimento da muda no campo (MOHAMMED; VIDABER, 1990). Segundo a literatura, além do declínio no enraizamento, a maturação do tecido vegetal acarreta na redução da qualidade do sistema radicular (MITCHELL; ZWOLINSKIB; JONESC, 2004; RAGONEZI et al., 2010). Na estaquia de *Larix* sp em diferentes idades observou-se que o declínio na qualidade do sistema radicular ocorreu de maneira mais expressiva que a redução da competência ao enraizamento (PEER; GREENWOOD, 2001). Em estudo com *Abies fraseri* houve uma redução dos valores médios do número de raízes de 6,1 para 5,4 e dos valores de comprimento total de raiz de 31 para 28 cm com o aumento da idade de 3 para 7 anos (ROSIER et al., 2005). Já na estaquia do *P. elliottii* var. *elliottii* x *P. caribaea* var. *hondurensis* com 8 anos de idade observou-se que o

número médio de raízes por estaca foi de 3,5 após 91 dias de permanência na casa de vegetação.

Tabela 2 - Resumo da análise de variância para número de raízes (NR) e comprimento total de raiz (CTR) das estacas de *P. elliotii* da matriz Pee53PCS

Causas da variação	GL	Quadrados Médios de NR	Quadrados Médios de CTR (cm)
Tratamentos	1	0,04 <sup>ns</sup>	17,76 <sup>ns</sup>
Resíduo	20	1,0	96,6
CVexp (%)	-	44,9	49,06

<sup>ns</sup> - Valor não significativo a 5% e a 10% de probabilidade de erro pelo Teste F. Tratamentos = T5 e T6; GL = Graus de Liberdade e CVexp = Coeficiente de Variação Experimental

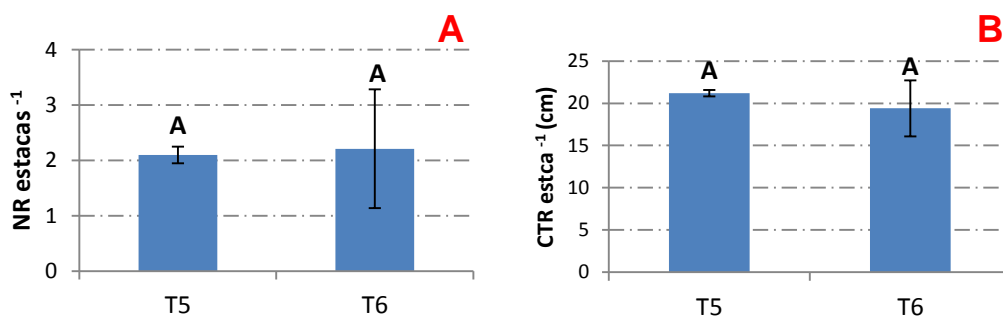


Figura 5 – A: Valores médios de número de raízes (NR) e B: Comprimento total de raiz (CTR) das estacas de *P. elliotii* da matriz Pee53PCS em relação aos tratamentos T5 e T6. Médias seguidas por mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Dados apresentados como: média  $\pm$  desvio padrão

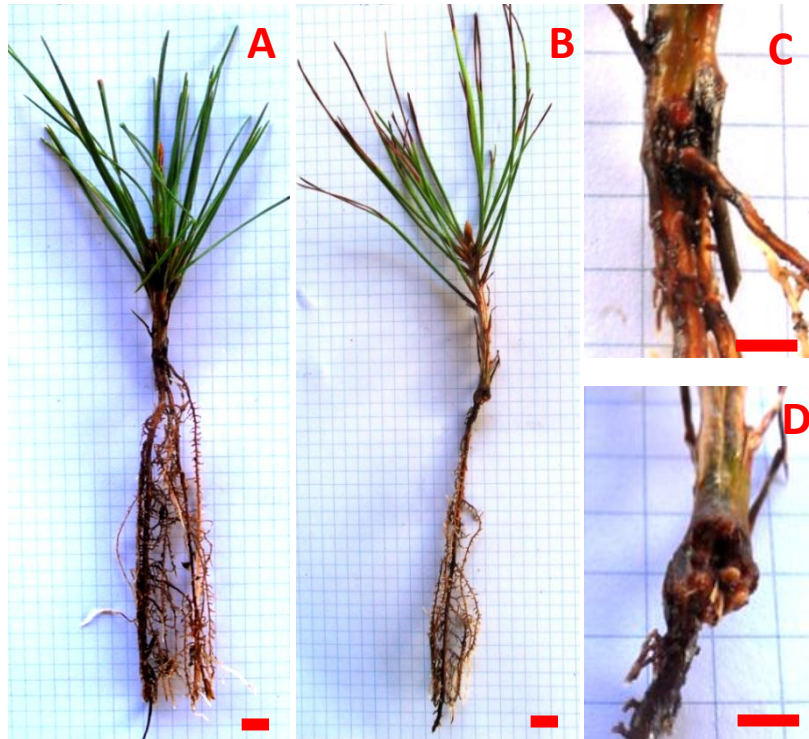


Figura 6 – Sistema radicular observado no tratamento T5 (terebentina + Fertimaxi2000<sup>®</sup>). A: Sistema radicular mais desenvolvido; B: Sistema radicular menos desenvolvido; C: Detalhe da base da estaca da figura A; D: detalhe da base da estaca da figura B. A e B: Barra = 2,0 cm; C e D: Barra de 1,0 cm

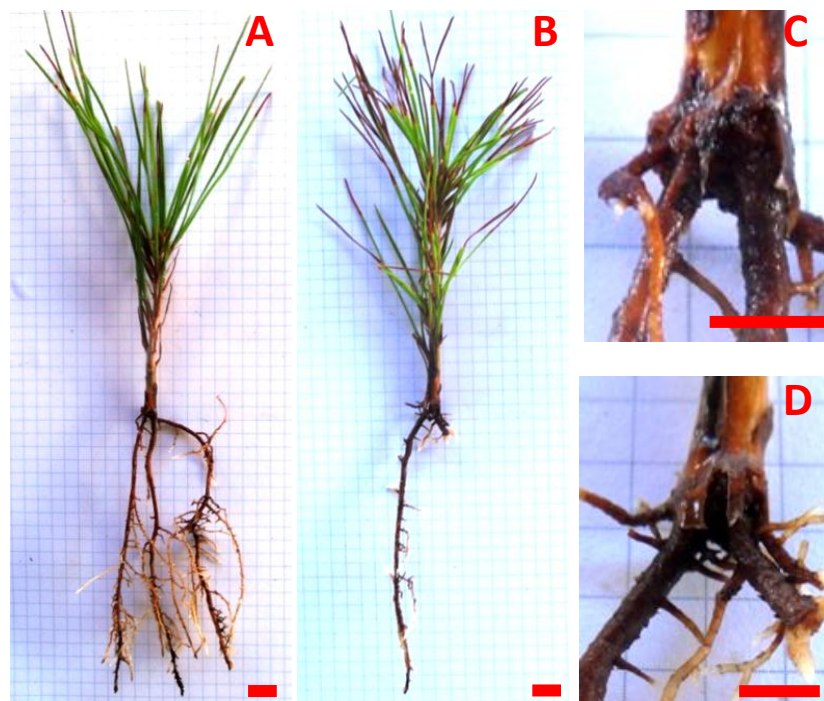


Figura 7 – Sistema radicular observado no tratamento T6 (terebentina + + 2.000 mg L<sup>-1</sup> paclobutrazol + Fertimaxi2000<sup>®</sup>). A: Sistema radicular mais desenvolvido; B: Sistema radicular menos desenvolvido; C: Detalhe da base da estaca da figura A; D: detalhe da base da estaca da figura B. A e B: Barra = 2,0 cm; C e D: Barra de 1,0 cm

Com base no exposto, nossos resultados demonstraram o efeito de duas enxertias seriadas seguido de podas sucessivas na competência ao enraizamento e na qualidade do sistema radicular, promovendo parcialmente o revigoramento e assim restabelecendo a capacidade rizogênica das estacas sob a ação dos tratamentos T5 e T6. Para Neves et al. (2006) as podas sucessivas permitem aumentar a produção de propágulos sem excluir o rejuvenescimento das plantas, que apresentam brotos/ estacas visualmente mais jovens e com maior competência ao enraizamento. No entanto, poucos são os trabalhos encontrados que mostram os resultados do efeito das podas drásticas ou podas sucessivas na indução ao enraizamento adventício de estacas, como demonstrado em nespereira (*Eriobotrya japonica* Lindl.) (SCALOPPI JUNIOR; JESUS; MARTINS, 2004) e em corticeira-da-serra (*Erythrina falcata* Benth) (NEVES et al., 2006).

Futuros trabalhos devem ser realizados, intensificando as podas sucessivas e ampliando a gama de concentrações do hormônio AIB e do paclobutrazol. Além disto, avaliar o enraizamento das brotações destas estacas, por meio do uso da técnica de estaquia seriada.

### 3.4 Conclusão

A aplicação do fertilizante Fertimaxi2000<sup>®</sup> combinado com a aplicação de terebentina e paclobutrazol propiciou os melhores índices de enraizamento, número de raízes e comprimento total de raiz das estacas da matriz Pee53PCS de *Pinus elliottii* no 2º estágio de enxertia seriada com um ano de podas sucessivas.

### Referências

ALCANTARA, G.B.; RIBAS, L.L.F.; HIGA, A.R.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C. Efeitos do ácido indolbutírico (AIB) e da coleta de brotações em diferentes épocas do ano no enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v. 36, n. 78, p. 151-156, 2008.

BRONDANI, G.E. **Aspectos morfofisiológicos na clonagem de *Eucalyptus benthamii***. 2012. 186 p. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

HARE, R.C. Effect of shoot girdling and season on rooting of slash pine cuttings. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 8, n. 1, p. 14-16, 1978.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIS JUNIOR, F.T.; GENEVE, R.L. **Plant propagation: principles and practices**. 7<sup>th</sup> ed. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 2002. 880 p.

HENRIQUE, A.; CAMPINHOS, E.N.; ONO, E.O.; PINHO, S.Z. Effect of plant growth regulators in the rooting of *Pinus* cuttings. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 49, n. 2, p. 189-196, 2006.

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

LUDWIG-MÜLLER, J. Indole-3-butyric acid in plant growth and development. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 32, n. 1, p. 219-230, 2000.

MITCHELL, R.G.; ZWOLINSKIB, J.; JONESC, N.M. A review on the effects of donor maturation on rooting and field performance of conifer cuttings. **The Southern African Forestry Journal**, Pretoria, v. 201, n. 1, p. 53-63, 2004.

MOHAMMED, G.H.; VIDAVER, W.E. The influence of acclimatization treatment and plantlet morphology on early greenhouse-performance of tissue-cultured Douglas fir [*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco]. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 21, n. 2, p. 111-117, 1990.

NEVES, T.C.S.; CARPANEZZI, A.A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; MARENCO, R.A. Enraizamento de corticeira-da-serra em função do tipo de estaca e variações sazonais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 12, p. 1699-1705, 2006.

PEER, K.R.; GREENWOOD, M.S. Maturation, topophysis and other factors in relation to rooting in *Larix*. **Tree Physiology**, Oxford, v. 21 n. 1, p. 267-272, 2001.

RAGONEZI, C.; KLIMASZEWSKA, K.; CASTRO, M.R.; LIMA, M.; OLIVEIRA, P.; ZAVATTIERI, M.A. Adventitious rooting of conifers: influence of physical and chemical factors. **Trees - Structure and Function**, Berlin, v. 24, n. 6, p. 975-992, 2010.

ROSIER, C.L.; FRAMPTON, J.; GOLDFARB, B.; WISE, F.C.; BLAZICH, F. A. Stumping height, crown position, and age of parent tree influence rooting of stem cuttings of fraser fir. **HortScience**, Alexandria, v. 40, n. 3, p. 771-777, 2005.

SCALOPPI JUNIOR, E.J.; JESUS, N.; MARTINS, A.B.G. Capacidade de enraizamento de variedades de nespereira submetidas à poda de renovação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 61-64, 2004.

STEFFENS, G.L.; WANG, S.Y. Biochemical and physiological alterations in apple trees caused by a gibberellin biosynthesis inhibitor, paclobutrazol. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 179, n. 1, p. 433-442, 1986.

VALDÉS, A.E.; FERNÁNDEZ, B.; CENTENO, M.L. Hormonal changes throughout maturation and ageing in *Pinus pinea*. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 42, n. 4, p. 335-340, 2004.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Gradiente de maturação e rejuvenescimento aplicado em espécies florestais. **Floresta e Ambiente**, Viçosa, v. 8, n. 1, p. 187-194, 2001.

WIESMAN, Z.; RIOV, J. Interaction of paclobutrazol and indole-3-butyric acid in relation to rooting of mung bean (*Vigna radiata*) cuttings. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 92, n. 1, p. 608-612, 1994.



#### 4 ESTAQUIA DE BRAQUIBLASTOS E BROTOS DE MATRIZES ADULTAS DE *Pinus elliottii* E *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea*

##### Resumo

A estaquia de espécies do gênero *Pinus* economicamente importantes é comumente feita em explantes juvenil, principalmente pela dificuldade de enraizamento dos brotos coletados de plantas adultas, selecionadas nos programas de melhoramento. Nestes casos, a estaquia de braquiblastos torna-se uma técnica de propagação alternativa promissora, principalmente pela disponibilidade de grandes quantidades de explantes de uma mesma planta e pelo uso de células meristemáticas presentes no braquiblasto, que são células com maior grau de juvenilidade. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a sobrevivência, enraizamento adventício, número de raízes e comprimento total de raiz de estacas de braquiblastos e brotos de duas matrizes de *Pinus elliottii* e *Pinus elliottii* x *caribaea*. Os braquiblastos para a confecção das estacas foram oriundos de ramos basais dos enxertos no 3º estágio de enxertia seriada e os brotos foram oriundos dos enxertos no 5º estágio de enxertia seriada com um ano de podas sucessivas. Após o preparo das estacas, estas foram submetidas aos seguintes tratamentos: (T1) 10.000 mg L<sup>-1</sup> AIB + talco em pó com fungicida; (T2) 2.000 mg L<sup>-1</sup> paclobutrazol + 10.000 mg L<sup>-1</sup> AIB + talco em pó com fungicida; (T3) 2.000 mg L<sup>-1</sup> AIB em pó com 4% de fungicida CAPTAN®; (T4) paclobutrazol + 2.000 mg L<sup>-1</sup> AIB em pó com 4% de fungicida CAPTAN®. O talco com fungicida foi preparado com 1% de fungicida Cerconil®. Os resultados permitiram inferir que a sobrevivência e o enraizamento adventício aos diferentes tratamentos variaram de acordo com o genótipo e com o tipo das estacas (brotos/ braquiblastos). De maneira geral, nossos resultados evidenciaram o efeito da aplicação do AIB na competência ao enraizamento dos braquiblastos e o efeito do uso do paclobutrazol, anterior a aplicação do AIB, na rizogênese dos brotos de *P. elliottii* var. *elliottii* e de *P. elliottii* X *P. caribaea* adultos. Ao mesmo tempo, é possível que seja necessário mais tempo de avaliação para que se observe o desenvolvimento do sistema caulinar das estacas de braquiblastos enraizadas, e assim, ocorra a formação de mudas clonais.

Palavras-chave: Enraizamento adventício; Regulador crescimento; Paclobutrazol

##### Abstract

The conifers propagation by cuttings is usually made in the juvenile phase, mainly due to the difficulty induce rooting in cuttings from mature plant donor. In these cases, the brachyblasts cutting becomes a promising alternative technique, especially by the availability of large amounts of explant at the same plant and the use of meristematic cells in the base of brachyblasts, which are cells with a higher degree of juvenility. In this context, the present work aimed to evaluate the cutting survival, rooting growth, root number and total length of root in two types of cuttings (brachyblasts and shoot) of mature *P. elliottii* and *P. elliottii* X *P. caribaea*. The brachyblasts cuttings were collected of grafts up three sequential grafting and the stem cuttings were collected of grafts up five sequential grafting one year after the beginning of successive pruning. The treatment were: (T1) 10,000 mg L<sup>-1</sup> IBA + talc with fungicide; (T2) 2,000 mg L<sup>-1</sup> paclobutrazol + 10,000 mg L<sup>-1</sup> IBA + talc with fungicide;



(T3) 2,000 mg L<sup>-1</sup> IBA powder with 4% fungicide CAPTAN®; (T4) paclobutrazol + 2,000 mg L<sup>-1</sup> IBA powder with 4% fungicide CAPTAN®. The talc with fungicide was prepared with 1% fungicide Cerconil®. The results showed that the survival and rooting in the different treatments varied according to the genotype and the type of cuttings (brachyblast/ shoot). In general, our results showed the effect of the IBA in rooting competence of brachyblasts and the effect of paclobutrazol plus IBA in rooting ability of shoots. At the same time, it is also possible that it may take more time for stem development in the rooted brachyblasts.

Keywords: Adventitious rooting; Plant growth regulator; Paclobutrazol

#### 4.1 Introdução

Em espécies do gênero *Pinus*, a estaquia pode ser realizada utilizando-se brotos ou braquiblastos como fonte de explante (MERGEN; SIMPSON, 1964). A estaquia de brotos é comumente usada na propagação de espécies do gênero *Pinus* (REINES; BAMPING, 1960; SMITH; THORPE, 1975; HAMANN, 1998; HENRIQUE et al., 2006; TANG; NEWTON, 2007; ALCANTARA et al., 2008; RASMUSSEN; SMITH; HUNT, 2009; HUNT; TRUEMAN; RASMUSSEN, 2011), entretanto, a competência ao enraizamento e a qualidade do sistema radicular decrescem com o aumento da idade ontogenética ou maturação do material de origem, utilizados para produção das estacas (MITCHELL; ZWOLINSKIB; JONESC, 2004; ANDREJOW, 2006; RAGONEZI et al., 2010).

A produção de mudas clonais a partir de braquiblastos, que consiste em induzir a formação do sistema radicular e caulinar a partir do meristema quiescente dos braquiblastos, tem sido reportada em diversas espécies do gênero *Pinus* (JECKALEJS, 1956; ISIKAWA; KUSAKA, 1959; MERGEN; SIMPSON, 1964; REINES; BAMPING, 1964; RUDOLPH; NIENSTAEDT, 1964; KUMMEROW, 1966; HOFF; MCDONALD, 1968; STRUVE; BLAZICH, 1984; NELSON; ZENG; HAMAKER, 1992). Hoff e McDonald (1968) em seu trabalho destacam a estaquia de braquiblastos como uma técnica de propagação interessante, principalmente em espécies do gênero *Pinus* onde outras técnicas convencionais de propagação não demonstram resultados satisfatórios. Da mesma forma, Isaza et al. (2013) apontaram a estaquia de braquiblasto como uma técnica alternativa promissora para a propagação de *P. maximinoi*, em ambas as fases de desenvolvimento (juvenil e adulto).

A formação de raízes adventícias, por sua vez, pode ser influenciada por todas as classes de reguladores de crescimento, bem como inibidores/ retardadores do crescimento (HARTMANN et al., 2002).

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o enraizamento adventício de estacas provenientes de braquiblastos e brotos de matrizes adultas de *Pinus elliottii* e *Pinus elliottii* X *Pinus caribaea*, sob a ação da auxina ácido indolbutírico (AIB) e do paclobutrazol.

## **4.2 Material e métodos**

### **4.2.1 Caracterização geral do experimento**

O trabalho foi conduzido de dezembro de 2012 a março de 2013 nas dependências da empresa RESIFLOR parte do grupo Resinas Brasil, situada em Guareí-SP (23°22' S e 48°11' W, 645 m). Segundo classificação de Köppen, o clima da região é subtropical úmido do tipo Cfa.

### **4.2.2 Obtenção das matrizes e constituição do jardim clonal de enxertia seriada**

Utilizaram-se ápices de duas matrizes de *Pinus elliottii* de 20 anos de idade selecionados pela elevada produtividade em resina, sendo uma de *Pinus elliottii* var. *elliotti* puro (Pee30PCS) e uma de *Pinus elliotti* x *Pinus caribaea* de um pomar com polinização não controlada (PH2T21). Os ápices adultos foram enxertados em porta enxertos de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* jovem. Realizaram-se cinco estágios de enxertia seriada, sendo uma enxertia por ano. A enxertia seriada foi realizada com brotos coletados dos enxertos do ano anterior, os quais foram induzidos por meio da poda apical dos enxertos. Nos enxertos do 1° ao 4° estágio de enxertia seriada não foram feitas podas sucessivas (Figura 1 A). Já nos enxertos do 5° estágio de enxertia seriada, foram realizadas podas sucessivas durante o período de um ano (Figura 1 B). Observou-se que a maioria das brotações desenvolvidas era proveniente do meristema quiescente do braquiblasto (Figura 2). Sendo assim, durante este período as podas foram feitas de acordo com a velocidade de crescimento da brotação de cada matriz, mantendo aproximadamente 1/3 da porção basal do broto, com o objetivo de induzir a brotação do meristema quiescente dos braquiblastos.



Figura 1 – A: Jardim clonal de enxertos de *P. elliottii* e *P. elliottii* X *P. caribaea* no 2º e 3º estágios de enxertia seriada; B: Jardim clonal de enxertos de *P. elliottii* e *P. elliottii* X *P. caribaea* no 5º estágio de enxertia seriada um ano após o início das podas sucessivas



Figura 2 - Brotação do meristema quiescente do braquiblasto após a poda apical do enxerto

### 4.2.3 Coleta e preparo dos explantes

#### 4.2.3.1 Coleta e preparo dos braquiblastos

Brotações da porção basal dos enxertos das matrizes Pee30PCS e PH2T21 do 3º estágio de enxertia seriada (Figura 1 A) foram coletadas, preferencialmente, no período matinal, a fim de reduzir a evapotranspiração. Durante todo o processo, as brotações

foram conservadas úmidas, a fim de minimizar a perda da turgescência celular dos tecidos vegetais.

Logo após a coleta das brotações (Figura 3 A) os braquiblastos foram retirados cuidadosamente para evitar danos à porção basal (que contém o meristema quiescente). As estacas dos braquiblastos foram preparadas com a redução de 50% da área foliar (Figura 3 B).



Figura 3 - A: Brotação logo após a coleta; B: Estaca de braquiblasto após o preparo e padronização. Barra = 1,0 cm

#### 4.2.3.2 Coleta e preparo dos brotos

Brotações dos enxertos das matrizes Pee30PCS e PH2T21 do 5º estágio de enxertia seriada com um ano de podas sucessivas (Figura 1 B) foram coletadas, preferencialmente, no período matinal, a fim de reduzir a transpiração dos mesmos. Durante todo o processo, as brotações foram conservadas úmidas, a fim de minimizar a perda da turgescência celular dos tecidos vegetais.

Logo após a coleta das brotações, as estacas foram preparadas com  $7 \pm 1$  cm de comprimento, sem a remoção da ponteira (gema apical). Na região basal, foi efetuado um corte em bisel, sendo as acículas do terço inferior retiradas (Figura 4).

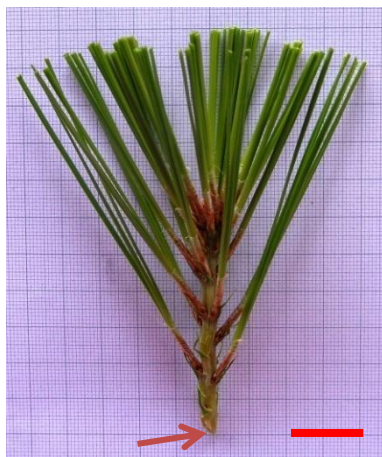


Figura 4 - Estaca após o preparo e padronização. Seta evidencia detalhe do corte em bisel.  
Barra = 2,0 cm

#### 4.2.4 Tratamentos e delineamento experimental

Após o preparo das estacas, estas foram submetidas aos seguintes tratamentos: (T1) 10.000 mg L<sup>-1</sup> AIB + talco em pó com fungicida; (T2) 2.000 mg L<sup>-1</sup> paclobutrazol + 10.000 mg L<sup>-1</sup> AIB + talco em pó com fungicida; (T3) 2.000 mg L<sup>-1</sup> AIB em pó com 4% de fungicida CAPTAN<sup>®</sup>; (T4) paclobutrazol + 2.000 mg L<sup>-1</sup> AIB em pó com 4% de fungicida CAPTAN<sup>®</sup>. O AIB líquido utilizado nos tratamentos T1 e T2 foi preparado em solução hidroalcoólica com 2% de etanol e o talco com fungicida foi preparado com 1% de fungicida Cerconil<sup>®</sup>. A base das estacas foram imersas em solução de AIB por 10 segundos, em terebentina e paclobutrazol por 30 segundos. As estacas foram estaqueadas em tubetes plásticos cônicos (55 cm<sup>3</sup>), com a inserção de aproximadamente 3 cm da região basal da estaca no substrato Carolina<sup>®</sup> com 160 g de Osmocote<sup>®</sup> formulação 15-09-12 por saco de 45 litros. Após a estaquia, as estacas foram levadas para casa de vegetação.

Foram feitas três repetições, com 11 estacas por repetição, totalizando 33 estacas por tratamento. O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente aleatorizado.

#### 4.2.5 Coleta dos dados

As estacas foram mantidas por 100 dias em casa de vegetação sob temperatura de 30± 2,1°C e umidade relativa do ar de 78± 4,6%. Os valores de temperatura e umidade relativa do ar da casa de vegetação foram medidos diariamente às 08:00, 09:30, 11:00, 12:00, 13:30, 14:30 e 16:30 horas. Após este período foi avaliado a

porcentagem de sobrevivência, a porcentagem de enraizamento, o número de raízes e o comprimento total de raiz.

#### 4.2.6 Análise estatística dos dados

Os dados coletados foram submetidos a análise da variância e ANOVA ( $p < 0,10$  e  $p < 0,05$ ). De acordo com os resultados da ANOVA os dados foram comparados pelo teste de Tukey ( $p < 0,10$  e  $p < 0,05$ ). As análises estatísticas foram feitas com auxílio do programa SAS (STATISTIC ANALYSIS SYSTEM).

#### 4.3 Resultados e discussão

Os dados de sobrevivência (SOBRE), enraizamento (ENR), número de raízes (NR) e comprimento total de raiz (CTR) não atenderam às pressuposições da análise de variância, inclusive após a transformação, motivo pelo qual foi apresentada somente a análise descritiva das médias (Tabela 1).

Tabela 1 – Porcentagem média de sobrevivência (SOBRE) e enraizamento (ENR), número médio de raízes (NR) e média do comprimento total de raiz (CTR) das estacas da matriz Pee30PCS de *P. elliotii* e da matriz PH2T21 de *P. elliotii* X *P. caribaea*

Matriz	Estaca	Trat	SOBRE (%)	ENR (%)	NR	CTR (cm)
Pee30PCS	Braq	T1	0	0	0	0
Pee30PCS	Braq	T2	0	0	0	0
Pee30PCS	Braq	T3	0	0	0	0
Pee30PCS	Braq	T4	33,37	0	0	0
PH2T21	Braq	T1	0	0	0	0
PH2T21	Braq	T2	0	0	0	0
PH2T21	Braq	T3	21,23	12,13	1	7,85
PH2T21	Braq	T4	6,07	0	0	0
Pee30PCS	Broto	T1	0	0	0	0
Pee30PCS	Broto	T2	0	0	0	0
Pee30PCS	Broto	T3	0	0	0	0
Pee30PCS	Broto	T4	9,10	3,03	1	2,53
PH2T21	Broto	T1	0	0	0	0
PH2T21	Broto	T2	0	0	0	0
PH2T21	Broto	T3	0	0	0	0
PH2T21	Broto	T4	9,09	0	0	0

Braq= estacas provenientes de braquiblastos; Broto= estacas provenientes de brotos

A ausência de resposta de sobrevivência e iniciação radicular das estacas (braquiblastos e brotos) aos tratamentos T1 e T2, pode estar relacionada ao fato das estacas terem sido expostas a uma concentração inadequada de auxina exógena (10.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB). O nível crítico da aplicação de auxinas exógenas encontra-se muito próximo a fitotoxicidade (HARTMANN et al., 2002), sendo que concentrações abaixo deste nível não são eficazes para à indução da rizogênese (JANICK, 1966) e acima deste limite inibem o desenvolvimento radicular, além de causar necrose na base da estaca (DÍAZ-SALA et al., 1996). Segundo Brondani (2012) a concentração ideal de aplicação exógena de AIB varia de acordo com cada situação de manejo no viveiro e tipo de material genético.

Os tratamentos T3 e T4, por sua vez, induziram o enraizamento adventício das estacas, sendo o T3 na estaquia de braquiblastos na matriz Pee30PCS (12%) e o T4 na estaquia de brotos na matriz PH2T21 (3%) (Tabela 1). Houve a indução média de uma raiz por estaca, sendo que o comprimento médio de raiz foi de 7,8 cm para a Pee30PCS no T4 e 2,5 para a PH2T21 no T4 (Tabela 1). Nota-se, entretanto, que apenas os brotos da PH2T21 apresentaram competência ao enraizamento quando submetida ao tratamento T4 (Tabela 1), indicando que o uso de paclobutrazol anterior a aplicação de AIB é mais eficiente na indução da rizogênese dos brotos quando comparadas aos braquiblastos. O paclobutrazol tem sido descrito como promotor de enraizamento adventício de estacas (brotos) em diversas espécies (STEFFENS; WANG, 1986), uma vez que atua na inibição da síntese de giberelina, e que elevados níveis deste hormônio podem atuar como um inibidor do enraizamento (HARTMANN et al., 2002).

Além disto, os resultados demonstraram que as respostas de enraizamento adventício foi genótipo- dependente, uma vez que as diferentes matrizes tiveram diferentes respostas quando submetidas ao mesmo tratamento (Tabela 1). Segundo a literatura, as diferenças de competência ao enraizamento adventício entre matrizes, clones e famílias são muito comuns em espécies do gênero *Pinus* (SHEPHERD et al., 2005; ANTONELLI et al., 2013), e podem ser críticas para o sucesso da propagação por estaquia (MOON; YI, 1993; KIBBLER; JOHNSTON; WILLIAMS, 2004).

De maneira geral, nossos resultados (Figura 4) demonstraram o efeito do AIB e/ou paclobutrazol na habilidade de enraizamento das estacas provenientes dos braquiblastos e das brotações dos enxertos. Observa-se, entretanto, que a estaquia dos braquiblastos induziu apenas o sistema radicular, sem que ocorresse o desenvolvimento

da parte aérea, ou seja, até o momento não foi possível a formação da muda clonal (Figura 5 A).

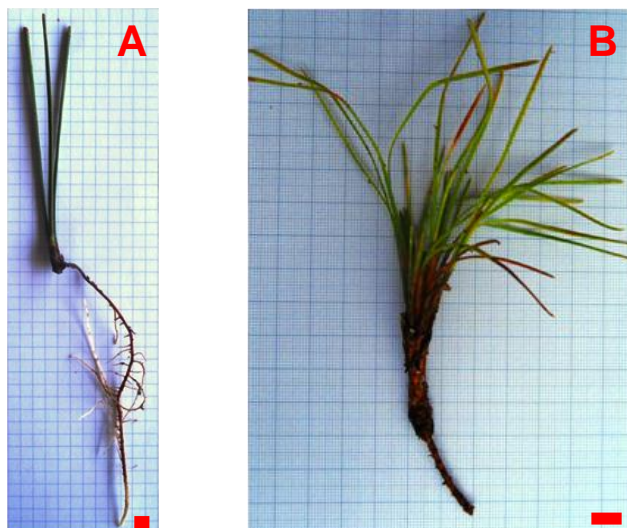


Figura 4 – A: Sistema radicular induzido nos braquiblastos; B: Sistema radicular induzido nos brotos. Barra = 1,0 cm

#### 4.4 Conclusões

A aplicação de  $2.000 \text{ mg L}^{-1}$  de AIB favoreceu a indução do enraizamento adventício das estacas provenientes dos braquiblastos da matriz PH2T21 de *Pinus elliottii* X *Pinus caribaea*;

O uso de  $2.000 \text{ mg L}^{-1}$  de paclobutrazol, anterior a aplicação de  $2.000 \text{ mg L}^{-1}$  de AIB, induziu a formação de raízes adventícias das estacas provenientes das brotações dos enxertos da matriz Pee30PCS de *Pinus elliottii*;

#### Referências

ALCANTARA, G.B.; RIBAS, L.L.F.; HIGA, A.R.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C. Efeitos do ácido indolbutírico (AIB) e da coleta de brotações em diferentes épocas do ano no enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v. 36, n. 78, p. 151-156, 2008.

ANDREJOW, G.M.P. **Minijardim clonal de *Pinus taeda* L.** 2006. 92 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.



ANTONELLI, P.; CASTEL'BRANCO, G.; SILVA, P.; ALMEIDA, P. Adventitious root of mature *Pinus elliottii* cuttings. In: IUFRO WORKING GROUP 2.02.20, 2013, Jacksonville. **Digital program...** Jacksonville: Breeding for Value in a Changing World, 2013. p. 57. Disponível em: <[http://www.ncsu-feop.org/IUFRO/IUFRO\\_digital-program.pdf](http://www.ncsu-feop.org/IUFRO/IUFRO_digital-program.pdf)>. Acesso em: 12 mar. 2013.

BRONDANI, G.E. **Aspectos morfofisiológicos na clonagem de *Eucalyptus benthamii***. 2012. 186 p. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

DÍAZ-SALA, C.; HUTCHISON, K.W.; GOLDFARB, B.; GREENWOOD, M.S. Maturation-related loss in rooting competence by loblolly pine stem cuttings: the role of auxin transport, metabolism and tissue sensitivity. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 97, p. 481-490, 1996.

HAMANN, A. Adventitious root formation in cuttings of loblolly pine (*Pinus taeda* L.): developmental sequence and effects of maturation. **Tree Physiology**, Oxford, v. 12, n. 3, p. 175-180, 1998.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIS JUNIOR, F.T.; GENEVE, R.L. **Plant propagation: principles and practices**. 7<sup>th</sup> ed. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 2002. 880 p.

HENRIQUE, A.; CAMPINHOS, E.N.; ONO, E.O.; PINHO, S.Z. Effect of plant growth regulators in the rooting of *Pinus* cuttings. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 49, n. 2, p. 189-196, 2006.

HOFF, R.J.; MCDONALD, G.I. **Rooting of needle fascicles from western white pine seedlings**. Washington: USDA, Forest Service Research, 1968. 6 p. (Note INT, 80).

HUNT, M.A.; TRUEMAN, S.J.; RASMUSSEN, A. Indole-3-butyric accelerates adventitious root formation and impedes shoot growth of *Pinus elliottii* var. *elliottii* X *Pinus carbaea* var. *hondurensis* cuttings. **New Forests**, Dordrecht, v. 41, n. 3, p. 349-360, 2011.

ISAZA, N.; ESPINOZA, J.; DVORAK, W.; HODGE, G. Circumventing graft incompatibility in *Pinus maximinoi* by air-layering and needle fascicle propagation. In: IUFRO WORKING GROUP 2.02.20, 2013, Jacksonville. **Digital program...** Jacksonville: Breeding for Value in a Changing World, 2013. p. 51. Disponível em: <[http://www.ncsu-feop.org/IUFRO/IUFRO\\_digital-program.pdf](http://www.ncsu-feop.org/IUFRO/IUFRO_digital-program.pdf)>. Acesso em: 12 mar. 2013.

ISIKAWA, H.; KUSAKA, M. The vegetative propagation of cuttings of *Pinus* species. I. Vegetative propagation of Japanese black pine using leaf-bundles. **Bulletin of the Government Forest Experiment Station**, Meguro, v. 1, n. 116, p. 59-64, 1959.

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

JECKALEJS, H.J. The vegetative propagation of leaf-bundle cuttings of red pine, *Pinus resinosa*. **Forestry Chronicle**, Mattawa, v. 32, n. 1, p. 89-93, 1956.

KIBBLER, H.; JOHNSTON, M.E.; WILLIAMS, R.R. Adventitious root formation in cuttings of *Backhousia citriodora* F. Muell 1. Plant genotype, juvenility and characteristics of cuttings. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 102, n. 1, p. 133-143, 2004.

KUMMEROW, J. Vegetative propagation of *Pinus radiata* by means of needle fascicles. **Forest Science**, Bethesda, v. 12, n. 4, p. 391-398, 1966.

MERGAN, F.; SIMPSON, B.A. Asexual propagation of *Pinus* by rooting needle fascicles. **Silvae Genetica**, Bad Orb, v. 13, n. 5, p. 133-139, 1964.

MITCHELL, R.G.; ZWOLINSKIB, J.; JONESC, N.M. A review on the effects of donor maturation on rooting and field performance of conifer cuttings. **The Southern African Forestry Journal**, Pretoria, v. 201, n. 1, p. 53-63, 2004.

MOON, H.K.; YI, Y.S. Cutting propagation of *Quercus acutissima* clones after rejuvenation through serial grafting. **Annals of Forest Science**, Les Ulis, v. 50, n. 1, p. 314-318, 1993.

NELSON, C.D.; ZENG L.; HAMAKER, J.M. Propagation of loblolly, slash, and longleaf pine from needle fascicles. **Tree Planters' Notes**, Coeur d'Alene, v. 43, n. 3, p. 67-71, 1992.

RAGONEZI, C.; KLIMASZEWSKA, K.; CASTRO, M.R.; LIMA, M.; OLIVEIRA, P.; ZAVATTIERI, M.A. Adventitious rooting of conifers: influence of physical and chemical factors. **Trees - Structure and Function**, Berlin, v. 24, n. 6, p. 975-992, 2010.

RASMUSSEN, A.; SMITH, T. E.; HUNT, M. A. Cellular stages of root formation, root system quality and survival of *Pinus elliottii* var. *elliottii* X *Pinus caribaea* var. *hondurensis* cuttings in different temperature environments. **New Forests**, Dordrecht, v.38, n. 1, p. 285-294, 2009.

REINES, M.; BAMPING, J.H. Seasonal rooting responses of slash and loblolly pine cuttings. **Journal of Forestry Research**, Harbin, v. 58, n. 8, p. 646-647, 1960.

\_\_\_\_\_. Rooting of needle bundles. **Journal of Forestry**, Bethesda, v. 62, n. 1, p. 181-182, 1964.

RUDOLPH, T.D.; NEINSTAEDT, H. Rooting, shoot development, and flowering of jack pine needle fascicles. **Silvae Genetica**, Bad Orb, v. 13, n. 4, p. 118-123, 1964.

SHEPHERD, M.; MELLICK, R., TOON, P.; DALE, G.; DIETERS, M. Genetic control of adventitious rooting on stem cuttings in two *Pinus elliottii* × *P. caribaea* hybrid families. **Annals of Forest Science**, Champenoux, v. 62, n. 1, p. 403-412, 2005.

SMITH, D.R.; THORPE, T.A. Root initiation in cuttings of *Pinus radiata* seedlings: II. Growth regulator interactions. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 26, n.2, p. 193-202, 1975.

STEFFENS, G.L.; WANG, S.Y. Biochemical and physiological alterations in apple trees caused by a gibberellin biosynthesis inhibitor, paclobutrazol. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 179, n. 1, p. 433-442, 1986.

STRUVE, D.K.; BLAZICH, F.A. Pre-severance environmental conditions influence rooting response of eastern white pine needle fascicles. **Forest Science**, Bethesda, v. 30, n. 2, p. 343-354, 1984.

TANG, W.; NEWTON, R.J. Micropropagation via organogenesis in slash pine. In: JAIN, S.M.; HAGGMAN, H. (Ed.). **Protocols for micropropagation of woody trees and fruits**. Dordrecht: Springer, 2007. p. 15–22.