

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

AUREA PORTES FERRIANI

MINIESTAQUIA E QUANTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS EM *Piptocarpha*
angustifolia DUSÉN EX. MALME

CURITIBA

2009

AUREA PORTES FERRIANI

MINIESTAQUIA E QUANTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS EM *Piptocarpha*
angustifolia DUSÉN EX. MALME

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Agronomia.

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

Co-orientadores: Dr. Ivar Wendling
Prof. Dr. Henrique Soares
Koehler

CURITIBA

2009

Ferriani, Aurea Portes

Miniestaquia e quantificação de polifenóis em *Piptocarpha angustifolia*
Dusén ex. Malme / Aurea Portes Ferriani - Curitiba, 2009.
84 f.: il (algumas color.).

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

Co-orientadores: Dr. Ivar Wendling

Prof. Dr. Henrique Soares Koehler

Tese (doutorado em Agronomia) - Setor de Ciências Agrárias,
Universidade Federal do Paraná.

1.Vassourão-branco. 2.Polifenóis. 3. Juvenilidade. I. Título.

A Gabriel e André Portes Ferriani

*Que me ensinaram o verdadeiro sentido
do amor e da doação, com o desejo de
que a Luz Perene da Sabedoria sempre
acompanhe suas vidas.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela Fé que tem me sustentado a cada dia.

Aos meus pais Adúlio e Emília, irmãos Emerson e Leandro, esposo Emi e filhos Gabriel e André pelo grande apoio, amor, compreensão nas constantes ausências.

Às pesquisadoras Beatriz Helena Noronha Sales Maia e Sandra Bos Mikich, pela amizade e por me possibilitarem a introdução ao tão sonhado universo científico...

À minha orientadora Katia Christina Zuffellato-Ribas pela amizade, atenção e bom convívio ao longo desta jornada.

Aos queridos professores e amigos do Programa de Pós-graduação em Agronomia - Produção Vegetal pela oportunidade de aprendizado.

Por não querer cometer a injustiça de esquecer algum nome, agradeço imensamente aos colaboradores da *Embrapa Florestas* - pesquisadores, analistas, técnicos e estagiários - que me dedicaram seu tempo, atenção e conhecimentos para que este trabalho pudesse ser construído.

Aos membros das bancas de pré-defesa e defesa pelas valiosas contribuições.

Muito obrigada de coração sempre...

E um verso de Mário Quintana:

“Os anjos dão tudo de si sem jamais se despirem de nada”.

BIOGRAFIA

Aurea Portes Ferriani, filha de Adúlio José Portes e Emília Portes nasceu no município de Santo André, em 04 de janeiro de 1968;

Em 1982 concluiu seu curso do Ensino Fundamental no Colégio Estadual Professora Ondina Rivera Miranda Cintra, em Santo André;

Em 1985 concluiu seu curso do Ensino Médio no Colégio Estadual Dr. Carlos de Campos em Santo André;

Em 1988 graduou-se em Licenciatura em Ciências pela Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Santo André, em Santo André;

Em 1991 graduou-se em Bacharelado em Biologia pela Universidade São Judas Tadeu, em São Paulo;

Em 1996 especializou-se em Educação Ambiental pela Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Santo André, em Santo André;

Em 2002 concluiu sua especialização em Biologia da Conservação e Manejo da Vida Selvagem, pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná;

Em 2004 ingressou no Programa de Mestrado em Agronomia - Produção Vegetal da Universidade Federal do Paraná, sendo admitida ao Programa de Doutorado em 2006;

Atuou como Professora de Ensino Fundamental e Médio desde 1990 até 2003 e atualmente ministra a disciplina Botânica nos cursos de Ciências Biológicas, Farmácia e Tecnologia de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Tuiuti do Paraná.

RESUMO

Piptocarpha angustifolia Dusén ex. Malme (Asteraceae) é uma espécie arbórea nativa brasileira pioneira, pertencente à Floresta Ombrófila Mista. Apresenta crescimento rápido e aproveitamento madeireiro, potencialidades para recuperação de ecossistemas degradados e implantação em sistemas agrossilvipastoris. Sua propagação pela via seminal é prejudicada pela produção irregular e número reduzido de sementes viáveis e, além disso, a propagação vegetativa pela estaquia de ramos semilenhosos não apresentou resposta para enraizamento adventício. Tendo em vista a demanda por mudas de espécies nativas que contemplem características como elevado acúmulo de biomassa e sombreamento de culturas, foi adotada a propagação vegetativa pela miniestaquia na tentativa de promover o enraizamento adventício do material juvenil. Mudanças originadas via seminal foram conduzidas sob sistema semi-hidropônico contendo areia média lavada e em porta-mudas com mistura de vermiculita e casca de arroz carbonizada para formação de minicepas. Os experimentos de miniestaquia foram realizados durante um ano com a finalidade de verificar a produtividade de brotações e enraizamento das miniestacas. Outras análises incluíram a quantificação de polifenóis totais em diferentes propágulos, buscando relacioná-los ao respectivo potencial rizogênico. As maiores produções de miniestacas ocorreram nas estações da primavera, outono e verão, variando entre 202,5 a 259,2 por m² ao mês. O enraizamento adventício alcançou 45% na época do inverno com número de raízes igual a 6,3 e comprimento médio de 9,8cm. Os polifenóis totais apresentaram as maiores concentrações em miniestacas iniciadas no processo de enraizamento adventício.

Palavras-chave: vassourão-branco; propagação vegetativa; enraizamento; juvenilidade.

ABSTRACT

Piptocarpha angustifolia Dusén ex. Malme (Asteraceae) is a Brazilian tree native and pioneer species, belonging to Mixed Rain Forest. It presents fast growth and uses timber, potential to ecosystem restoration and introduction in forest, agriculture and pasture systems. Its propagation by seeds is damaged by irregular production and reduced number of feasible seeds, therefore, the plant propagation by cutting of semihardwood shoots didn't answer to adventitious rooting. With the necessity of native plantlets that have characteristics from this species as biomass accumulation and culture shading, were used the plant propagation by minicutting in attempt to promote the adventitious rooting of the juvenile material. Seedlings from seeds were conducted by semihydroponic system with washed sand and seedlings dispensers containing medium vermiculite and carbonized rice husk to promote minisprouts formation. The minicuttings experiments were made during a year with purpose to verify the sprouts production and rooting of minicuttings. Other analysis included the total polyphenols quantification in different propagules, to link them with rizogenic potential. The higher production of minicuttings occurred in spring, autumn and summer, varying between 202,5 and 259,2 for square meter at month. The adventitious rooting reached to 45% in winter with 6,3 roots number and 9,8cm media of length. The total polyphenols presented the most concentrations in minicuttings initiated in the adventitious rooting.

Key words: vassourão-branco; vegetative propagation; rooting; juvenility.

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| TABELA 1 - BROTAÇÕES DE <i>P. angustifolia</i> INSTALADAS EM CANALETÃO, COLETADAS NO PERÍODO DE 2007 E 2008, COLOMBO, PR, 2008..... | 47 |
| TABELA 2 - PORCENTAGENS DE MINIESTACAS DE <i>P. angustifolia</i> ENRAIZADAS (ME), NÚMERO MÉDIO DE RAÍZES POR MINIESTACA (NMR) E COMPRIMENTO MÉDIO DAS TRÊS MAIORES RAÍZES POR MINIESTACA (CMR), COLETADAS NA PRIMAVERA DE 2007, OUTONO E INVERNO DE 2008, CURITIBA, PR, 2008..... | 52 |
| TABELA 3 - PORCENTAGENS DE MINIESTACAS DE <i>P. angustifolia</i> COM CALOS (MC), VIVAS (MV) E MORTAS (MM), COLETADAS NA PRIMAVERA DE 2007, OUTONO E INVERNO DE 2008, CURITIBA, PR, 2008..... | 55 |
| TABELA 4 - SOLUÇÕES PARA CURVA-PADRÃO DE ÁCIDO GÁLICO PARA LEITURA DE POLIFENÓIS TOTAIS EM ESPECTROFOTÔMETRO, COLOMBO, PR, 2008..... | 68 |
| TABELA 5 - MÉDIAS DAS ABSORBÂNCIAS E CONCENTRAÇÕES DE POLIFENÓIS EXTRATÍVEIS TOTAIS (PET) EM DIFERENTES TIPOS DE PROPÁGULOS DE <i>P. angustifolia</i> , COLOMBO, PR, 2008..... | 70 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| FIGURA 1 - COMPARAÇÃO DAS VARIÁVEIS PORCENTAGENS DE MINIESTACAS DE <i>P. angustifolia</i> ENRAIZADAS, MINIESTACAS COM CALOS, MINIESTACAS VIVAS E MORTAS ENTRE AS ESTAÇÕES AVALIADAS, CURITIBA, PR, 2008..... | 56 |
| FIGURA 2 - CURVA-PADRÃO OBTIDA A PARTIR DAS CONCENTRAÇÕES DE POLIFENÓIS EXTRATÍVEIS TOTAIS EM PROPÁGULOS DE <i>P.</i> <i>angustifolia</i> , COLOMBO, PR, 2008..... | 70 |

LISTA DE APÊNDICES

| | | |
|--------------|---|----|
| APÊNDICE 1 - | APÊNDICE 1. A - PLANTA MATRIZ ADULTA DE <i>P. ANGUSTIFOLIA</i> ; B - RAMOS CONTENDO INFLORESCÊNCIAS; C - SEMENTES E D – PLÂNTULAS. COLOMBO, 2008..... | 82 |
| APÊNDICE 2 - | APÊNDICE 2. A - MINIJARDIM CLONAL; B - DETALHE DAS MINICEPAS DE <i>P. ANGUSTIFOLIA</i> COM FOLHAS OXIDADAS; C - INSTALAÇÃO DE MINIESTACAS DE <i>P. ANGUSTIFOLIA</i> ; D – MINIESTACAS ENRAIZADAS, COLOMBO, 2008..... | 83 |
| APÊNDICE 3 - | APÊNDICE 3. A - RAMO DE PLANTA MATRIZ ADULTA DE <i>P. ANGUSTIFOLIA</i> UTILIZADO PARA ANÁLISE DE POLIFENÓIS TOTAIS; B - BROTAÇÃO DE <i>P. ANGUSTIFOLIA</i> PROVENIENTE DE MINICEPA, MINIESTACA COM CALOS E MINIESTACA ENRAIZADA, COLOMBO, 2009..... | 84 |
| APÊNDICE 4 - | ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA PORCENTAGENS DE MINIESTACAS DE <i>P. angustifolia</i> ENRAIZADAS, NÚMERO MÉDIO DE RAÍZES E COMPRIMENTO MÉDIO DAS TRÊS MAIORES RAÍZES, COLETADAS NA PRIMAVERA DE 2007, OUTONO E INVERNO DE 2008, CURITIBA, PR, 2008..... | 85 |
| APÊNDICE 5 - | ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA PORCENTAGENS DE MINIESTACAS DE <i>P. angustifolia</i> COM CALOS, VIVAS E MORTAS, COLETADAS NA PRIMAVERA DE 2007, OUTONO E INVERNO DE 2008, CURITIBA, PR, 2008..... | 85 |
| APÊNDICE 6 - | TEMPERATURAS MÍNIMAS, MÁXIMAS E MÉDIAS REGISTRADAS NA ESTUFA DO LABORATÓRIO DE PROPAGAÇÃO DE PLANTAS DA EMBRAPA FLORESTAS, NO PERÍODO DE OUTUBRO DE 2007 A DEZEMBRO DE 2008, COLOMBO, 2008..... | 86 |

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO GERAL | 14 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 16 |
| 2.1 Caracterização da espécie..... | 16 |
| 2.2 Propagação seminal..... | 18 |
| 2.3 Propagação vegetativa..... | 18 |
| 2.3.1 Estaquia..... | 19 |
| 2.3.2 Miniestaquia..... | 20 |
| 2.3.2.1 Formação e estabelecimento do minijardim clonal | 21 |
| 2.3.2.2 Produtividade de brotações | 22 |
| 2.3.2.3 Confeção e instalação de miniestacas | 23 |
| 2.3.2.4 Aspectos relacionados ao enraizamento de miniestacas | 24 |
| 2.3.3 Micropropagação..... | 27 |
| 2.4 Compostos fenólicos..... | 28 |
| REFERÊNCIAS..... | 31 |
| | |
| 3 CAPÍTULO I - MINIESTAQUIA DE <i>Piptocarpha angustifolia</i> DUSÉN EX. MALME | 39 |
| | |
| RESUMO..... | 39 |
| ABSTRACT..... | 40 |
| 3.1 INTRODUÇÃO..... | 41 |
| 3.2 MATERIAL E MÉTODOS..... | 43 |
| 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 45 |
| 3.3.1 Sobrevivência de minicepa e produção de brotações..... | 45 |
| 3.3.2 Enraizamento de Miniestacas..... | 52 |
| 3.4.3 Miniestacas com Calos, Vivas e Mortas..... | 54 |
| 3.4 CONCLUSÕES | 57 |
| REFERÊNCIAS..... | 58 |

| | |
|--|----|
| 4 CAPÍTULO II - QUANTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS EM DIFERENTES PROPÁGULOS DE <i>Piptocarpha angustifolia</i> DUSÉN EX. MALME | 62 |
| RESUMO..... | 62 |
| ABSTRACT..... | 63 |
| 4.1 INTRODUÇÃO..... | 64 |
| 4.2 MATERIAL E MÉTODOS..... | 65 |
| 4.2.1 Preparação do Extrato Bruto..... | 66 |
| 4.2.2 Determinação de Polifenóis Extratíveis Totais..... | 67 |
| 4.2.2.1 Solução de Folin-ciocalteau (1:3)..... | 67 |
| 4.2.2.2 Solução de Carbonato de Sódio Anidro a 20%..... | 67 |
| 4.2.2.3 Solução de Ácido Gálico..... | 67 |
| 4.2.3 Curva-padrão do Ácido Gálico..... | 68 |
| 4.2.4 Determinação das Absorbâncias..... | 68 |
| 4.2.5 Curva-padrão..... | 69 |
| 4.2.6 Determinação dos Polifenóis Extratíveis Totais (PET)..... | 69 |
| 4.2.7 Cálculo dos Polifenóis Extratíveis Totais (PET)..... | 69 |
| 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 70 |
| 4.4 CONCLUSÕES..... | 74 |
| REFERÊNCIAS..... | 75 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 78 |
| 5 CONCLUSÃO GERAL | 80 |

1. INTRODUÇÃO GERAL

Piptocarpha angustifolia Dusén ex Malme (Asteraceae), popularmente denominada vassourão-branco (APÊNDICE 1-A), é uma espécie florestal nativa pioneira, pertencente à Floresta Ombrófila Mista. Estudos silviculturais apontam sua utilização em recuperação de ecossistemas pelo desenvolvimento satisfatório em solos degradados. Apresenta crescimento rápido e pode ser utilizada em plantios dirigidos para sombreamento de culturas, produção de aglomerados e caixotaria (SEITZ, 1976; INOUE; RODERJAN; KUNIYOSHI, 1984; CARVALHO, 2003).

Com referência à propagação seminal dessa espécie, a produção de sementes é irregular e de difícil coleta, devido ao diminuto tamanho de suas unidades de reprodução (APÊNDICE 1-C), menores que 3 mm, as quais apresentam baixa porcentagem de embriões viáveis (SEITZ, 1976; CARVALHO, 2003; FERRIANI, BORTOLINI; NOGUEIRA, 2005). Tais características justificam a utilização de técnicas de propagação vegetativa para obtenção de mudas que possam atender a objetivos específicos (ROCHA, 2002).

Atualmente diversas espécies florestais têm sido utilizadas amplamente em processos de recuperação de ecossistemas degradados, enriquecimento de áreas remanescentes ou em sistemas agrossilvipastoris. Segundo Porfírio-da-Silva (2006), esses sistemas trazem benefícios econômicos e ambientais para a sociedade devido a sua capacidade de incremento à produtividade e manejo racional de recursos.

O aumento da demanda por mudas de qualidade faz com que técnicas para otimização dos processos de produção sejam cada vez mais estudadas. Nesse sentido, o uso da propagação vegetativa constitui um método amplamente difundido, utilizado para muitas espécies lenhosas como o eucalipto e para a maioria das frutíferas comerciais (DUARTE, FACCHINELO; SANTOS FILHO, 1992; LEONEL; RODRIGUES, 1993; ROCHA, 2002), que permite a produção de indivíduos de maneira seletiva e rápida, principalmente quando a espécie não apresenta sementes em quantidade ou qualidade desejadas (PAIVA; GOMES, 1993; ROCHA, 2002). Além disso, como inovação

da estaquia convencional, a miniestaquia aproveita o potencial juvenil dos propágulos como estímulo ao enraizamento das espécies, possibilitando a produção de mudas daquelas onde a estaquia não apresentou resultados satisfatórios.

No caso de *P. angustifolia*, experimentos de estaquia com uso de estacas semilenhosas de plantas adultas e brotações de cepa não tiveram enraizamento em nenhuma das épocas de coleta testadas, mesmo sob efeito da aplicação de diferentes concentrações de ácido indol butírico (FERRIANI, 2006). Além disso, durante cinco anos de experimentos de propagação vegetativa em *P. angustifolia*, não foi possível acompanhar o desenvolvimento de mudas a campo, pois o manejo dos propágulos durante a confecção ou avaliação gera a oxidação e morte dos mesmos. A referência ao fenômeno da oxidação foi citada por Inoue, Roderjan e Kuniyoshi (1984), sem existência estudos sobre o efeito de tais compostos.

Os compostos fenólicos estão entre as mais difundidas classes de metabólitos secundários, sendo conhecidos pela sua grande importância no sistema solo-planta, também relacionados ao estresse metabólico, parede celular e exsudado de raízes e sementes (CASTRO; FERREIRA; SILVA, 2004). Os ácidos fenólicos, flavonóides e cumarinas são citados por Ono e Rodrigues (1996) como grupos que participam de diversos processos fisiológicos do metabolismo secundário relacionando-os à propagação vegetativa de plantas. Esse mesmo grupo de compostos é citado por vários autores como co-fatores do enraizamento por atuarem como sinergistas ou antagonistas do processo, pelo efeito observado sobre o sistema de degradação da auxina (IAA-oxidase), apresentando, desta forma, efeito promotor ou inibidor durante o processo (KEVERS *et al.*, 1997; TROBEC *et al.*, 2005).

Devido à inexistência de trabalhos sobre miniestaquia e influência dos compostos fenólicos envolvidos no processo de enraizamento adventício para a espécie *Piptocarpha angustifolia* Dusén ex. Malme, esta pesquisa buscou adaptar o protocolo de miniestaquia e determinar compostos que possam apresentar relação com esse processo. Dessa maneira, os objetivos específicos foram: i) avaliar a sobrevivência, produtividade e potencialidades de propagação da espécie com a utilização da miniestaquia de propágulos juvenis

e, ii) verificar a presença de compostos fenólicos que possam apresentar relação com o processo de enraizamento adventício da espécie.

Nesse sentido, foram organizados dois capítulos, sendo que no capítulo um se encontram informações referentes à miniestaquia e no capítulo dois a quantificação de compostos fenólicos em diferentes propágulos de *P. angustifolia*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Caracterização da espécie

Piptocarpha angustifolia Dusén, popularmente conhecida como vassourão-branco, pertence à divisão Magnoliophyta (Angiospermae), classe Magnoliopsida (Dicotyledonae), ordem Asterales, família Asteraceae, tribo Vernoniae (CRONQUIST, 1988).

A família Asteraceae apresenta hábito muito variado entre ervas, subarbustos, trepadeiras e excepcionalmente árvores, sendo a grande maioria (cerca de 98%) constituída por plantas de pequeno porte (JOLY, 1975). Sua distribuição é cosmopolita, constituindo a maior família de Eudicotiledôneas com aproximadamente 1600 gêneros e 23000 espécies; no Brasil há ocorrência de aproximadamente 300 gêneros e 2000 espécies (SOUZA; LORENZI, 2005).

O gênero *Piptocarpha* compreende cerca de 28 espécies da América tropical, desde o México até o norte da Argentina, incluindo arbustos, arvoretas, lianas e árvores (CABRERA; KLEIN, 1980). No Brasil, a ocorrência natural de *Piptocarpha angustifolia* é observada entre as latitudes 22°30' S (Rio de Janeiro) e 29°30' S (Rio Grande do Sul), com variação altitudinal de 400m a 1200m (Santa Catarina) (CARVALHO, 2003).

É uma árvore perenifólia, com 5 a 15 m de altura e 20 a 40 cm de DAP (diâmetro à altura do peito), com tronco quase reto e de seção cilíndrica a irregular, com fuste de 5 a 15m de comprimento. A ramificação da copa é racemosa, esparsa, formando copa alta, alongada, de folhagem cinza-clara muito característica, que vista de longe, toma um tom prateado muito evidente. Suas folhas são simples, alternas ou opostas, curtamente pecioladas,

estritamente lanceoladas, com os bordos serrados ou quase inteiros, glabras na parte ventral e acinzentada no dorso, com presença de pêlos estrelados. Apresenta grande dimorfismo na fase jovem, medindo cerca de 20 cm de comprimento e 5 cm de largura, revestidas de pêlos esparsos na submata de florestas naturais, na fase adulta podem apresentar até 9 cm de comprimento e 1,5 cm de largura, quando são caracteristicamente discolors.

Suas gemas floríferas iniciam seu desenvolvimento em julho, com o aparecimento das inflorescências de agosto a dezembro (APÊNDICE 1-B), no Estado do Paraná, apresentando como vetores de polinização abelhas e diversos insetos pequenos (SEITZ, 1976). A frutificação ocorre de outubro a janeiro no Estado Paraná, e de novembro a fevereiro, no Estado do Rio Grande do Sul. Segundo Seitz (1976) as sementes (APÊNDICE 1-C) são aderidas ao fruto (aquênio) e muito pequenas (cerca de 3 mm), com a produção de aproximadamente 10% de sementes em relação ao número de flores, apresentando dispersão de frutos e sementes pela síndrome anemocórica.

Cabrera e Klein (1980) apresentam *Piptocarpha angustifolia* como espécie inicial, característica da vegetação secundária, comum nas clareiras, nos capoeirões e na floresta secundária. Caracteriza-se como uma das melhores indicadoras de vegetação semidevastada no Planalto Sul-Brasileiro, parecendo não ser afetada pela baixa fertilidade química dos solos pelo bom desenvolvimento em solos com superfícies alteradas pela terraplanagem. A espécie não é encontrada em solos encharcados ou muito úmidos, somente em solos rasos ou profundos com boa drenagem e de textura que varia de franca a argilosa (SEITZ, 1976; CARVALHO, 2003).

O vassourão-branco (*P. angustifolia*) é uma espécie heliófila e tolerante a temperaturas mínimas de -10° Celsius (SEITZ, 1976), cujo plantio a pleno sol é recomendado ecologicamente, pois a espécie pode ser usada em plantio misto e no tutoramento de espécies umbrófilas. Apresenta excelente regeneração natural na floresta secundária, sendo viável a utilização de mudas providas da regeneração natural, pela emissão de brotações de touça (CARVALHO, 2003).

2.2 Propagação seminal

Piptocarpha angustifolia apresenta um fruto denominado aquênio, estrutura peculiar à família Asteraceae (SOUZA *et al.*, 2004). Alguns trabalhos demonstraram que esta família apresenta como característica de fenologia reprodutiva a produção de grande quantidade de frutos, que em sua maioria encontram-se vazios ou com sementes inviáveis (SEITZ, 1976; FERREIRA *et al.*, 2001; CARVALHO, 2003; FOSSATI, 2007).

Segundo Seitz (1976), o número de sementes por quilograma situa-se entre 1.200.000 e 1.300.000 e corresponde aos valores verificados por Ferriani, Bortolini e Nogueira (2005). Ainda conforme Seitz (1976), cerca de 10 a 20% das sementes coletadas são viáveis, enquanto a maioria das sementes apresenta o embrião abortado ou ausência do mesmo (FOSSATI, 2007).

Fossati (2007) analisou características fenológicas desta espécie, comparando indivíduos com diferentes idades em diferentes locais, além das características físicas e de germinação das sementes. Concluiu que a baixa germinação e vigor das sementes é uma característica inerente da espécie, provavelmente relacionada ao alto grau de indivíduos aparentados situados numa mesma região ecológica.

Com relação às porcentagens de germinação, Fossati (2007) obteve médias entre 4,8 e 6%, semelhantes aos valores obtidos por Ferriani, Bortolini e Nogueira (2005), que corresponderam a 6%. Nos trabalhos relacionados a esta espécie não foi citada a oxidação intensa verificada na maioria dos embriões, fato verificado por Ferriani, Bortolini e Nogueira (2005) e em avaliações realizadas ao longo de três períodos reprodutivos da espécie.

2.3. Propagação Vegetativa

Diante do aumento de procura por espécies que reúnam características silviculturais e produtivas adequadas, as técnicas de propagação vegetativa vêm sendo cada vez mais difundidas e aplicadas, principalmente quando a espécie não apresenta sementes em quantidade ou qualidade desejadas

(ROCHA, 2002). Muitos trabalhos relatam diferenças entre o enraizamento adventício em materiais juvenis e adultos (HIGASHI; SILVEIRA; GONÇALVES, 2000; PALANISAMY; SUBRAMANIAN, 2001; WENDLING *et al.*, 2006), demonstrando que a condição fisiológica da planta-mãe é determinante em relação à sua idade cronológica (BAUER; JOHNSTON; WILLIAMS, 1999; HAAPALA, 2004; PIGNATTI; CROBEDDU, 2005).

2.3.1 Estaquia

O princípio da propagação vegetativa por estaquia consiste em destacar parte da planta matriz (estaca), com a finalidade de formar uma planta nova e completa, pela indução do enraizamento adventício (FACHINELLO *et al.*, 1995; HARTMANN *et al.*, 2002). Contudo as respostas obtidas para essa técnica variam amplamente, em função das condições ontológicas, fisiológicas e nutricionais das espécies (ZOBEL; TALBERT, 1984; FACHINELLO *et al.*, 1995) além dos fatores externos envolvidos no processo, tais como época de coleta dos propágulos (ONO *et al.*, 1994; NICOLOSO; LAZZARI; FORTUNATO, 1999; PINTO *et al.*, 2003), tipo de estacas utilizadas (NICOLOSO; LAZZARI; FORTUNATO, 1999; SALOMÃO *et al.*, 2002; BASTOS *et al.*, 2004), temperatura no leito de enraizamento, tratamentos com reguladores vegetais (PINTO *et al.*, 2003; ALTHAUS-OTTMANN; LEAL; ZUFFELLATO-RIBAS, 2006), tipo de substrato (DUARTE; FACHINELLO; SANTOS FILHO, 1992; NACHTIGAL *et al.*, 1994; ALMEIDA, 2005; PEREIRA *et al.*, 2005) e período de permanência em casa-de-vegetação (IRITANI; SOARES; GOMES, 1986; BASTOS *et al.*, 2004; CARVALHO; CUNHA; RODRIGUES, 2005).

A estaquia com utilização de estacas semilenhosas de *P. angustifolia* nas quatro estações do ano e com o uso de diferentes concentrações do ácido indol butírico teve como resultado a ausência de enraizamento em qualquer dos períodos analisados (FERRIANI, 2006). No mesmo trabalho, a estaquia de ramos semilenhosos com a utilização de brotações rejuvenescidas, provenientes de decepa, não apresentou indução radicial. A repetição do mesmo experimento em 2007, com aplicação de ácido naftaleno acético na

forma de talco também resultou em ausência do enraizamento, além da contaminação fúngica. Entre as possíveis causas da ausência do enraizamento e da perda desses propágulos foram cogitadas o excesso de umidade, inadequação do processo de assepsia e formação de compostos inibidores (AUER; FERRIANI; WENDLING, 2008).

Outra alternativa para a obtenção de estacas a partir de material juvenil obtido em genótipos de interesse é a poda drástica, também denominada de cepa, com a geração de brotações denominadas “de toco” ou “de touça”. Segundo Hackett (1987), a realização do corte raso de árvores adultas para induzir o crescimento de brotações juvenis e a produção de propágulos com maior potencial rizogênico, constituem a base para a propagação clonal comercial. Para a espécie em questão, experimentos utilizando brotações basais com diâmetros superiores a 30mm originadas da decepa foram instaladas em caixas contendo areia média como substrato com a finalidade de produzir brotações e, posteriormente, estacas fisiologicamente rejuvenescidas. Foi observado que esses propágulos alcançaram comprimento médio de 35 mm e morreram em consequência da oxidação generalizada, sem condições de formação de potenciais minicepas destinadas aos experimentos de propagação vegetativa.

2.3.2 Miniestaquia

A miniestaquia constitui uma inovação da estaquia convencional que, em determinadas espécies, tem possibilitado aumento de produtividade, uniformidade e porcentagem de enraizamento quando são atingidas condições nutricionais e fitossanitárias específicas (TITON *et al.*, 2003). Para espécies florestais como mogno (*Swietenia macrophylla*), cedro rosa (*Cedrela fissilis*), peroba (*Aspidosperma* sp.) e angico vermelho (*Adenanthera colubrina*), cujos experimentos de estaquia apresentaram resultados mínimos ou nulos para o enraizamento, a miniestaquia proporcionou o aumento dessa variável e melhoria e qualidade das mudas produzidas (SANTOS, 2002).

2.3.2.1 Formação e estabelecimento do minijardim clonal

Para realização da miniestaquia são instaladas minicepas originadas de material seminal (plântulas), de estaquia convencional ou micropropagação, sendo neste último caso denominadas microcepas, das quais são obtidas as brotações (miniesticas). O conjunto de minicepas constitui o minijardim clonal ou jardim miniclinal (WENDLING, 1999; XAVIER, SANTOS, 2002), cuja implantação pode ser realizada sob diferentes sistemas, tais como canaletão, tubetes, sacos plásticos ou vasos (CUNHA; WENDLING; SOUZA JR., 2005).

Um canaletão é uma estrutura formada por concreto, amianto ou fibro-cimento, instalada sobre bases fixas, garantindo adequações ergonômicas e fitossanitárias, onde podem ser cultivadas as minicepas. Para a espécie corticeira-do-mato (*Erythrina falcata* Bentham) Wendling, Ferrari e Dutra (2005) verificaram que em determinados períodos de coleta a produção de miniesticas foi duplicada no recipiente tipo canaletão em relação à instalação em tubetes. Cunha, Wendling e Souza Júnior (2005) compararam a eficiência dos sistemas de canaletão e tubetes para *Eucalyptus benthamii* Maiden et. Cambage, obtendo maior produtividade de brotações no primeiro, apesar da sobrevivência observada ter sido semelhante.

Com relação à escolha do tipo de substrato para instalação das minicepas, Higashi *et al.* (2002) recomendam o uso de areia ou cascalho, por apresentarem condições físicas e químicas adequadas à implantação dos propágulos. Contudo, em trabalhos desenvolvidos em canaletões utilizando sistema semi-hidropônico, observa-se a preferência pela utilização do substrato areia de granulometria média lavada (WENDLING; XAVIER, 2003; CUNHA; WENDLING; SOUZA JÚNIOR, 2005; WENDLING; FERRARI; DUTRA, 2005).

A nutrição das minicepas em sistema semi-hidropônico é composta por formulações específicas contendo macro e micronutrientes. O fornecimento da solução nutritiva pode ser realizado por gotejamento, nebulização ou rega manual (CUNHA; WENDLING; SOUZA JR., 2003; CUNHA; WENDLING; SOUZA JR., 2005; WENDLING; FERRARI; DUTRA, 2005).

2.3.2.2 Produtividade de brotações

Para iniciar o processo de formação de brotações (miniestacas), as minicepas são podadas em seu ápice, mantendo-se aproximadamente 10 a 15 cm de altura a partir do colo e, no mínimo, um par de folhas. Este procedimento visa estimular a formação de brotações pela quebra da dominância apical. O material é irrigado e recebe fertilização via solução nutritiva (fertirrigação) periódica e adaptada a cada tipo de material vegetal. Após intervalos entre 10 e 25 dias (variáveis de acordo com a época do ano, clone, espécie e condições nutricionais, entre outras) as miniestacas são coletadas e plantadas para indução do enraizamento adventício (WENDLING, 1999; XAVIER, SANTOS, 2002). O período de coletas de brotações é variável, chegando a ocorrer em intervalos médios de 5 dias para *Eucalyptus grandis* (WENDLING; XAVIER, 2005).

Com relação à produtividade de brotações (miniestacas), existe grande variação quanto ao sistema e manejo adotados. Para o gênero *Eucalyptus*, a produção de miniestacas por minicepa por coleta foi variável conforme o sistema de jardim miniclinal adotado: 5,6 miniestacas em sistema semi-hidropônico em canaletão a cada 5-10 dias (WENDLING; XAVIER; PAIVA, 2003); 1,9 miniestacas no sistema de jardim miniclinal em tubete a cada 20 dias (WENDLING *et al.*, 2000); 9,7 miniestacas no sistema de tubetes com fertirrigação por inundação coletadas em intervalos de 30 dias (TITON, 2003) e 8,1 miniestacas sob sistema de canaletão a cada 25-30 dias (CUNHA; WENDLING; SOUZA JR., 2005).

Avaliações da técnica para outras espécies realizadas por Santos (2002) com a utilização de jardim miniclinal em tubetes de 200 cm³, com coletas a cada 30 dias, apresentaram as seguintes produções de miniestacas por minicepa po coleta: 1,3 para cedro rosa; 1,1 para mogno; 1,6 para angico vermelho e 3,8 para jequitibá rosa. Dessa maneira, levando-se em consideração o intenso processo de melhoramento a que já foi submetido o gênero *Eucalyptus*, pode-se supor que a partir do aperfeiçoamento das exigências particulares de espécies nativas, tais como a do presente trabalho,

será possível aumentar o número de propágulos e conseqüentemente o número de mudas produzidas.

Os valores de produtividade de minicepas podem ser expressos por metro quadrado em cada período de coleta (variável entre as espécies) ou mensalmente, com a finalidade de uniformizar os valores para comparação. Brondani (2008) constatou em um híbrido de eucalipto (*E. benthamii* Maiden & Cambage x *E. dunnii* Maiden) valores entre 592 e 629 miniestacas por metro quadrado no outono e inverno, além de 635 a 852 na primavera e verão, respectivamente.

2.3.2.3 Confeção e instalação de miniestacas

Uma miniestaca é confeccionada a partir da remoção de uma brotação, com comprimento entre 2 a 6 cm, variável de acordo com o tamanho da brotação emitida, tamanho das folhas e a filotaxia da espécie. Dessa maneira, o ápice pode ou não ser mantido intacto, com duas a quatro folhas jovens, realizando-se corte reto ou em bisel na base.

Com a finalidade de manter a turgescência do material, evitando sua desidratação é necessário seu acondicionamento em recipientes contendo água fria. As lavagens consecutivas em água corrente são realizadas para a desinfestação dos propágulos e os tratamentos fitossanitários podem ser dispensados quando as minicepas se desenvolvem em ambiente controlado (CUNHA; WENDLING; SOUZA JR., 2005), porém o uso de imersão das miniestacas de *Pinus taeda* L. em solução de fungicida Captan[®] (0,1%) durante 15 minutos não interferiu no processo de formação de raízes do material (ALCÂNTARA *et al.*, 2008).

A instalação das miniestacas pode ser realizada em recipientes coletivos (bandejas ou caixas) e individualmente (tubetes, copos e sacos plásticos) contendo substrato vermiculita, casca de arroz carbonizada, areia ou produtos específicos puros ou em misturas com objetivo de promover o enraizamento. Para a espécie *Pinus taeda* L. o arranjo do substrato foi realizado com substrato orgânico comercial à base de casca de pinus

bioestabilizada no fundo do tubete e vermiculita média a dois centímetros da porção superior do mesmo. Tal organização teve como objetivo favorecer a nutrição das mudas, no caso da emissão de raízes (ALCÂNTARA *et al.*, 2008).

Após a instalação das miniestacas em recipientes contendo substratos, o material deve ser mantido em ambiente que propicie sua sobrevivência e enraizamento. Geralmente são utilizadas casas-de-vegetação que possuem controle temperatura (variações entre 20 e 25°C) e umidade (85 a 95%) controlada eletronicamente.

O período requerido para enraizamento das miniestacas é variável conforme as particularidades da espécie e condições ambientais, como temperatura, umidade e luminosidade (HIGASHI *et al.*, 2002). Além disso, deve-se considerar que as minicepas podem apresentar dificuldade de adaptação ao sistema semi-hidropônico (WENDLING, FERRARI, DUTRA, 2005), no que se refere à nutrição, o que demanda acompanhamento específico.

2.3.2.4 Aspectos relacionados ao enraizamento de miniestacas

A minestaquia seriada tem sido empregada com a finalidade de rejuvenescer espécies de interesse, buscando ampliar sua capacidade de enraizamento e conseqüente produção de mudas. A instalação de sete subcultivos consecutivos realizada por Wendling e Xavier (2003) revelou a eficiência dessa técnica de rejuvenescimento do gênero *Eucalyptus*, especialmente para clones com maior dificuldade natural de enraizamento. Nesse sentido, muitos trabalhos têm demonstrado a variação de respostas de enraizamento entre genótipos e cultivares (TONIETTO; FORTES; SILVA, 2001; WENDLING; XAVIER, 2003; WENDLING; XAVIER; PAIVA, 2003; BRONDANI, 2008)

As épocas de coleta e instalação de miniestacas podem exercer influência direta sobre o enraizamento. Para dois híbridos de eucalipto (*E. grandis* e *E. saligna*) o verão correspondeu ao período de maior concentração de carboidratos totais, coincidindo com período de maior sobrevivência e

enraizamento de miniestacas das espécies (TORRES, 2003). Miniestacas de outro híbrido da espécie (*E. benthamii* Maiden & Cambage x *E. dunnii* Maiden) apresentaram os maiores valores de produção de miniestacas nas épocas da primavera e verão, enquanto as maiores porcentagens de enraizamento ocorreram no outono e inverno (BRONDANI, 2008).

A influência da temperatura no ambiente de enraizamento de miniestacas foi também verificada por Cunha (2006) que comparou o enraizamento de miniestacas de eucalipto (clones de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus urophylla* e híbridos) sob sistemas de canaletão e tubetes. Neste trabalho, a autora verificou que em canaletão houve maior tendência de enraizamento sob temperaturas menores, enquanto em tubetes o aumento do enraizamento ocorreu com a elevação dessa variável. Para erva-mate Brondani *et al.* (2007) compararam casas-de-vegetação com e sem controle de umidade e temperatura, concluindo pela superioridade de do primeiro sistema.

Os padrões de confecção das miniestacas foram comparados por Schuch *et al.* (2007) em mirtilo (*Vaccinium ashey* Reade cv. "Clímax") com a utilização de propágulos basais e medianos sob influência de diferentes concentrações de ácido indol butírico. Como resultado verificaram que as concentrações não alteraram a resposta de enraizamento para propágulos medianos, porém exerceram relação positiva em miniestacas apicais. Em miniestacas caulinares e foliares de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.) Xavier, Santos e Oliveira (2003) verificaram a predominância do tipo caulinar em relação ao tipo foliar, alcançando resultados superiores a 70%.

A presença e manutenção de folhas ou de porções dessas estruturas são citadas como necessárias para o suprimento de carboidratos necessários à indução do enraizamento (WIESMAN; LAVÉE, 1995; HARTMANN *et al.*, 2002). Na miniestaquia de corticeira-do-mato Cunha, Wendling e Souza Júnior (2003) compararam a sobrevivência e enraizamento de propágulos com e sem folhas, obtendo porcentagens significativamente maiores nas duas variáveis para miniestacas com presença de folhas.

Quanto ao uso de reguladores vegetais como indutores do enraizamento adventício, existe ampla variação de respostas relacionadas à

espécie, condições fisiológicas, *status* nutricional (HARTMANN *et al.*, 2002). Algumas espécies apresentaram correlação positiva entre o aumento das porcentagens de enraizamento e as concentrações dessas substâncias aplicadas (WENDLING *et al.*, 2006; BRONDANI, 2008).

Almeida *et al.* (2007) realizaram comparação entre tipos de auxinas, concentrações e formas de aplicação em clones de *Eucalyptus cloeziana* F. Muell.. Os resultados revelaram que não houve diferença entre a forma de aplicação dos reguladores vegetais, porém clones com menor aptidão rizogênica responderam melhor às dosagens mais elevadas do produto enquanto os de maior aptidão apresentaram comportamento inverso.

Outras pesquisas, porém, apontaram a ocorrência de enraizamento na ausência ou sob efeito de concentrações reduzidas de reguladores vegetais (inferiores a 1000 mgL^{-1}) (XAVIER; SANTOS, 2002, CUNHA; WENDLING; SOUZA JR., 2003; XAVIER; SANTOS; OLIVEIRA, 2003; ALCANTARA, 2005; FERRIANI, 2006). No caso de *Pinus taeda* L. a aplicação do regulador ácido indol butírico (IBA) reduziu as porcentagens de enraizamento em todas as épocas de coleta de miniestacas (ALCANTARA *et al.*, 2008).

Quanto às exigências de substrato para instalação das miniestacas podem ser utilizados substratos inorgânicos ou orgânicos comerciais individualizados (CUNHA; WENDLING; SOUZA JÚNIOR, 2005) ou em combinações visando garantir porosidade e aeração adequadas ao processo. Alguns trabalhos utilizaram casca de arroz carbonizada e vermiculita em proporções iguais em volume (1:1) (WENDLING, 2002; XAVIER; SANTOS; OLIVEIRA, 2003; FERRIANI, 2006), vermiculita e composto orgânico (2:1) (XAVIER *et al.*, 2003), composto de casca de eucalipto, vermiculita e casca de arroz carbonizada (2:1:1) conforme citado por Torres (2003) e vermiculita média, casca de arroz carbonizada e casca de pinus (1:1:1), apresentando resultados satisfatórios (WENDLING; DUTRA; GROSSI, 2005).

O tempo de permanência em casa-de-vegetação e nos demais ambientes de enraizamento requerido pelas miniestacas apresenta grande variabilidade. Alguns trabalhos apontam períodos de permanência variando entre 30 dias (TONIETTO; FORTES; SILVA, 2001) e 120 dias (ALCANTARA *et*

al., 2008) somente em casa-de-vegetação, ou períodos consecutivos em casa-de-vegetação, casa-de-sombra e área a pleno sol que variam entre 70 e 110 dias (CUNHA; WENDLING; SOUZA JÚNIOR, 2003; XAVIER; SANTOS; OLIVEIRA, 2003; WENDLING; XAVIER, 2005; ALMEIDA *et al.*, 2007).

2.3.3 Micropropagação

A micropropagação constitui uma das metodologias utilizadas na propagação de plantas *in vitro*, utilizada para regenerar ou propagar novas plantas, acelerando o processo clonal (HARTMANN *et al.*, 2002). É uma técnica que apresenta limitações específicas para espécies lenhosas, como a contaminação interna de explantes, necrose apical, vitrificação, oxidação, dificuldades de enraizamento e sobrevivência *ex vitro* (SHARRY, 2001). No entanto, tem sido considerada uma alternativa para espécies lenhosas que apresentam dificuldade de enraizamento pelas técnicas de macropropagação, além de constituir uma alternativa para a produção comercial de espécies de interesse econômico (ITAYA *et al.*, 2005).

Apesar de constituir uma técnica mais onerosa de propagação vegetativa, os clones gerados em larga escala apresentam um valor agregado que pode compensar os custos de produção (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998), além de propiciar o resgate de genótipos de interesse (WENDLING, 2002) para fins produtivos e de conservação de espécies. Para o gênero *Eucalyptus* verificou-se que o uso da técnica apresentou aumento na eficiência do enraizamento, diminuição do tempo requerido em viveiro, além de maior vigor vegetativo em relação às mudas produzidas por macropropagação (TITON; XAVIER; OTONI, 2002).

Alguns aspectos como a contaminação e oxidação de explantes merecem destaque, pois constituem fatores de perda de material vegetal (HAAPALA, 2004). Em espécies nativas da Floresta Ombrófila Mista, como a erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hillaire), Horbach (2008) desenvolveu um protocolo específico de enraizamento a partir do controle do processo de oxidação recorrente na espécie.

No caso de *P. angustifolia*, além da utilização de estaquia e miniestaquia, foram realizados ensaios preliminares de micropropagação com a

utilização de experimentos de germinação *in vitro*, onde as sementes foram instaladas em diferentes concentrações de meio de cultura e apresentaram contaminação geral dos explantes (FERRIANI *et al.*, 2007).

2.4 Compostos fenólicos

O grupo dos compostos fenólicos é amplo (cerca de 10.000 compostos), envolvendo duas rotas metabólicas básicas: a rota do ácido chiquímico e a rota do ácido malônico, sendo a primeira preponderante entre os vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2004). São citados por sua atuação em mecanismos de defesa vegetal, suporte mecânico, atração de polinizadores ou dispersores de frutos, proteção contra radiação ultravioleta e inibição do crescimento de plantas competidoras adjacentes (TAIZ; ZEIGER, 2004).

As avaliações dos teores de fenóis totais têm sido realizadas para vários fenômenos fisiológicos, como resistência ao ataque de patógenos (NOJOSA *et al.*, 2003; CAMPOS *et al.*, 2004) nas interações animal-planta, maturação de frutos (OLIVEIRA JR. *et al.*, 2004), assim como na caracterização de estágios fisiológicos de espécies vegetais propensos ou não ao enraizamento (GESTO *et al.*, 1977). Maynard e Bassuk (1988) destacaram a necessidade de pesquisas sobre as interações entre radiação, compostos fenólicos e enzimas envolvidas no metabolismo das auxinas e fenóis, que apresentam relação com a indução da iniciação radicial.

Segundo Debergh e Read (1991), um grupo especial de compostos fenólicos são protetores das auxinas por atuarem como antioxidantes, inibindo a oxidação do ácido indolacético (IAA). Já Maynard e Bassuk (1988) relacionam esses compostos como protetores ou inibidores do processo de enraizamento por estimularem o complexo IAA-oxidase. Ono e Rodrigues (1996) citaram evidências da ação sinérgica entre a auxina e diferentes compostos fenólicos. Coll *et al.*¹ citado por Ono e Rodrigues (1996) classificaram os ácidos fenólicos em dois grupos: orto-di-hidroxifenóis e tri-

¹ COLL, J. B; RODRIGO, G. N; GARCÍA, B. S; TAMÉS, R. S. **Fisiologia vegetal**. 6.ed. Madrid: Ediciones Pirámide S.A., 1992.

hidroxifenóis (ácido clorogênico, ácido caféico, ácido gálico, ácido ferúlico, etc.) que diminuem a atividade da IAA-oxidase, aumentando a concentração do IAA endógeno, e o grupo dos mono-hidroxifenóis (ácido salicílico, ácido p-cumárico, ácido p-hidroxibenzóico, etc.) que aumentam a atividade da IAA-oxidase, diminuindo a concentração de IAA. Assim, o primeiro grupo genericamente denominado polifenóis pode estimular o enraizamento, ao contrário do grupo de monofenóis, que apresentam efeito inibidor. Nesse sentido, a determinação e quantificação de compostos fenólicos podem ser utilizadas como marcadores da capacidade rizogênica de diferentes propágulos, sejam eles provenientes de material vegetal adulto ou juvenil.

Conforme Ono e Rodrigues (1996) os ácidos fenólicos, flavonóides e cumarinas são grupos de compostos fenólicos que participam de diversos processos fisiológicos do metabolismo secundário relacionados à propagação vegetativa de plantas. Podem atuar como sinergistas ou antagonistas ao enraizamento, devido a seu efeito sobre o sistema de degradação da auxina (IAA-oxidase), apresentando, desta forma, efeito promotor ou inibidor durante o processo (KEVERS *et al.*, 1997).

Inicialmente, ressaltava-se o efeito inibitório dos fenóis sobre a formação de raízes (KEFELI; KADYROV, 1971), entretanto Druart Kevers e Gaspar (1982) constataram o aumento dos níveis de fenóis relacionados à promoção de enraizamento em *Malus domestica* Borkh. cv Jonagold. Estes autores verificaram o aumento do conteúdo de fenóis para propágulos mantidos em câmara escura, e sugeriram que a adição de polifenóis exógenos poderia ser utilizada com a finalidade de potencializar processos de formação de raízes adventícias.

Casagrande Jr. *et al.* (1999) observaram que estacas semilenhosas de araçazeiro (*Pisidium cattleyanum* Sabine) submetidas a 30%, 50% e 70% de redução da luminosidade apresentaram redução dos teores de fenóis totais de acordo com o aumento do sombreamento. Esses mesmos autores pontuaram que o aprofundamento de pesquisas sobre a redução de teores desses compostos poderia constituir uma ferramenta efetiva para propagação de espécies que manifestam o fenômeno da oxidação.

Trobec *et al.* (2005) avaliaram a flutuação de diferentes compostos fenólicos nos primeiros dias de enraizamento para estacas basais e apicais de

porta-enxertos de cerejeira 'gisela 5' submetidas a tratamentos com ácido indolbutírico (IBA) em talco. Com relação ao enraizamento, a aplicação de IBA não influenciou a concentração desses compostos nas bases dos propágulos, sendo que as estacas apicais apresentaram maiores porcentagens de enraizamento. Na mesma pesquisa as análises bioquímicas realizadas em cromatógrafo gasoso revelaram que o composto floroglucinol foi o mais abundante, apresentando aumento de concentração a partir do primeiro dia pós-instalação e pico de concentração entre o segundo e terceiro dia, decrescendo a partir desse período. Outros compostos, como catequina, rutina, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, ácido vanílico, epicatequina, ácido caféico, ácido sinapínico e ácido clorogênico foram também identificados, apresentando variações diversas quanto aos valores de concentração (TROBEC *et al.*, 2005).

Tofanelli, Ono e Rodrigues (2004) utilizaram a aplicação do hidroxifenol 2,6-DHAP (2,6-di-hidroxiacetofenona) em estacas semilenhosas de pessegueiro *Prunus persica* (L.) Batsch. cv. Okinawa antes do tratamento com o ácido indolbutírico. Como resultados verificaram que o tratamento prévio contendo hidroxifenol promoveu o aumento da porcentagem de enraizamento, número e comprimento de raízes em comparação às estacas não tratadas.

Outras substâncias, como enzimas do tipo peroxidase, IAA-oxidase e polifenoloxidase são relacionadas à regulação de processos metabólicos como a compatibilidade entre porta-enxerto e enxerto (RODRIGUES *et al.*, 2002) e o enraizamento (BATTACHARYA, 1988), entre outras. Algumas pesquisas relacionaram a peroxidase ao processo de iniciação radicial adventícia devido às variações verificadas entre essa substância e os níveis de auxinas endógenas avaliadas em diferentes espécies (DRUART; KEVERS; GASPAR, 1982; WENDLING, 2002).

REFERÊNCIAS

- ALCANTARA, G. B. 77f. **Miniestaquia de *Pinus taeda* L.**, Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade Federal do Paraná Curitiba, 2005.
- ALCANTARA, G. B.; RIBAS, L. L. F. HIGA, A. R.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Efeitos do ácido indolilbutírico (AIB) e da coleta de brotações em diferentes estações do ano no enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L., **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 36, n. 78, p. 151-156, 2008.
- ALMEIDA, L. S. 105f. **Avaliação morfológica de mudas de *Allophylus edulis* A. St. Hill., A. Juss. & Cambess) Radl. (vacum) e *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira) produzidas em diferentes substratos.** Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.
- ALMEIDA, F. D.; XAVIER, A.; DIAS, J. M. M.; PAIVA, H. N. Eficiências das auxinas (AIB e ANA) no enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus cloeziana* F. Muell., **Revista Árvore**, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 455-463, 2007.
- ALTHAUS-OTTMANN M. M.; LEAL L.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Propagação vegetativa de manacá-de-cheiro (*Brunfelsia uniflora* (Pohl.) D. Don), **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 12, n. 1, p. 31-36, 2006.
- AUER, C. G., FERRIANI, A. P., WENDLING, I. **Associação de *Rhizoctonia* sp. e *Fusarium* sp. a podridão de estacas de vassourão branco** In: XXXI Congresso Paulista de Fitopatologia, 2008, Campinas: Summa Phytopathologica. Botucatu: Associação Paulista de Fitopatologia, v.34, p.64, 2008.
- BASTOS, D. C.; MARTINS, A. B. G.; SCALOPPI JUNIOR, E. J.; SARZI, I.; FATINANSI, J. C. Influência do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas apicais e basais de caramboleira (*Averrhoa carambola* L.) sob condições de nebulização intermitente, **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26 n. 2, p. 284-286, 2004.
- BATTACHARYA, N. C. Enzyme activities during adventitious rooting. In: DAVIS, T. D.; HAISSIG, B. E.; SANKHLA, N. **Adventitious root formation in cuttings**, Portland, Dioscorides Press, 1988, 315p.
- BAUER, L. M.; JOHNSTON, M. E.; WILLIAMS R.R. Plant genotype, juvenility and mechanisms of inhibition of rooting *Persoonia virgata* R. Br. cuttings, **Australian Journal of Experimental Agriculture**, n. 39, p. 1029-1034, 1999.
- BRONDANI, G. E.; WENDLING, I.; SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; ROVEDA, L. F.; ORRUTÉA, A. G. Ambientes de enraizamento e substratos na miniestaquia da erva-mate, **Scientia agraria**, Curitiba, v. 8, n. 3, p. 257-267, 2007.

BRONDANI, G. E. 130f. **Miniestaquia e micropropagação de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage X *Eucalyptus dunii* Maiden**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2008.

CABRERA, A. L.; KLEIN, R. M. As plantas compostas. 3 Tribo Vernonieae. **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí, Herbário Barbosa Rodrigues, p. 226-407, 1980.

CAMPOS, A.D.; FERREIRA, A. G.; HAMPE, M. M. V.; ANTUNES, I. F.; BRANCÃO, N.; SILVEIRA, E. P.; OSÓRIO, V. A.; AUGUSTIN, E. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão antracnose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 7, p. 637-643, 2004.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Técnica, 2003, 1039 p.

CARVALHO C. M.; CUNHA, R. J. P.; RODRIGUES, J. D. Enraizamento de estacas semilenhosas de lichieira utilizando ácido indolbutírico, **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 95-97, 2005.

CASAGRANDE JR., J. G.; BIANCHI, V. J.; STRELOW, E. Z.; BACHARIN, M. A.; FACHINELLO, J. C. Influência do sombreamento sobre os teores de carboidratos e fenóis em estacas semilenhosas de araçazeiro, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 12, p. 2219-2223, 1999.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: Metabólitos Secundários**. 2.a edição. Visconde do Rio Branco: [s.n.], Viçosa, 2004, 113p.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. 2.a ed. New York: New York botanical Garden, 1988, 555p.

CUNHA, A. C. M. C. M.; WENDLING, I.; SOUZA JÚNIOR, L. Influência da presença ou ausência de folhas no enraizamento de miniestacas de corticeira-do-mato (*Erythrina falcata* Benth) obtidas em sistema hidropônico, **Comunicado técnico Embrapa Florestas**, Colombo, n. 89, 2003, 5p.

CUNHA, A. C. M. C. M.; WENDLING, I.; SOUZA JÚNIOR, L. Produtividade e sobrevivência de minicepas de *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cambage em sistema de hidroponia e em tubete, **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 15, n. 3, p. 307-310, 2005.

CUNHA, A. C. M. C. M. 99f. **Relações no estado nutricional de minicepas e condições meteorológicas com o número e enraizamento de miniestacas de eucalipto**. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal), Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2006.

DEBERGH, P. C.; READ, P. E., Micropropagation. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. (eds). **Micropropagation technology and application**. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1991, 486 p.

DRUART, P.H., KEVERS, C.L., GASPAR, T.H. *In vitro* promotion of root formation by apple shoots through darkness effect on endogenous phenols and peroxidases. **Zeitschrift für Pflanzenphysiologie**, Stuttgart, n.108, p.429-436, 1982.

DUARTE, O. R.; FACHINELLO, J. C.; SANTOS FILHO, B.G. Multiplicação da goiabeira serrana (*Feijoa sellowiana* Berg.) através de estacas semilenhosas, **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 27, n. 3, p. 513-516, 1992.

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

FERREIRA, A. G.; CASSOL, B.; ROSA, S. G. T.; SILVEIRA, T. S.; STIVAL, A. L.; SILVA, A. A. Germinação de sementes de Asteraceae nativas no Rio Grande do Sul, **Acta Botânica Brasílica**, v. 15, n. 2, p. 231-242, 2001.

FERRIANI, A. P. 100f. **Estaquia de vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia* Dusén) com uso de ácido indol butírico**. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

FERRIANI, A. P.; BORTOLINI, M. F.; NOGUEIRA, A.C. **Comportamento germinativo de sementes de vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia* Dusén) sob diferentes temperaturas e substratos**. In: Congresso Brasileiro de sementes, Foz do Iguaçu, 2005. Informativo ABRATES, v. 15, n. 1, 2, 3, agosto, 2005.

FERRIANI, A. P.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. ; DUTRA, L. F. ; HANSEL, F. A. ; QUADROS, K. M. . **Estabelecimento in vitro de vassourão-branco**. In: 58º Congresso Nacional de Botânica, 2007, São Paulo. Resumos..., 2007.

FOSSATI, L. C. 160f. **Ecofisiologia da germinação das sementes em populações de *Ocotea puberula* (Rich.) Ness, *Prunus sellowii* Koehne e *Piptocarpha angustifolia* Dusén Ex Malme**. Tese (Doutorado em Ciências Florestais). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2007.

GESTO, M. D. V.; VÁZQUEZ, A.; VIEITEZ, E. Rooting substances in water extracts of *Castanea sativa* and *Salix viminalis*. **Physiologia Plantarum**, n. 40, p. 265-268, 1977.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (orgs). **Cultura de tecidos e transformação**

genética de plantas. Brasília: Embrapa SPI/Embrapa CNPH v. 1, p.183-260, 1998.

HAAPALA, T. 53f. **Establishment and use of juvenility for plant propagation in sterile and non-sterile conditions**. Helsinki, Academic dissertation. University of Helsinki, Finland, 2004.

HACKETT, W. P. Donor plant maturation and adventitious root formation. In: DAVIES, T. D.; HAISSIG, B. E.; SANKHLA, N. (eds.) **Adventitious root formation in cuttings**. (Advances in Plant Sciences Series, 2). Portland: Dioscorides Press, p. 11 – 28, 1987.

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

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. A.; GONÇALVES, A. N. Propagação vegetativa de *Eucalyptus*: princípios básicos e sua evolução no Brasil, **Circular Técnica IPEF**, n. 192, São Paulo: Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, 2000.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. de A.; GONÇALVES, A. N. Nutrição e adubação em minijardim clonal hidropônico de *Eucalyptus*. **Circular Técnica IPEF**, n. 194, São Paulo: Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, 21 p., 2002.

HORBACH, M. A. 63f. **Propagação *in vitro* e *ex vitro* de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hillaire – Aquifoliaceae)**. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

INOUE, M. T.; RODERJAN, C. V.; KUNIYOSHI, Y. S. **Projeto madeira do Paraná**. Curitiba, Fundação de pesquisas florestais do Paraná, 1984, 260p.

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

ITAYA, N. M.; VAZ, A. P. A.; KERBAUY, G. B.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Produção de frutanos em calos e plântulas clonadas *in vitro* de *Viguiera discolor* Baker (Asteraceae). **Acta Botânica Brasílica**, n. 19, v. 3, p.579-586, 2005.

JOLY, A. B. **Introdução à taxonomia vegetal** 2.a ed. São Paulo: EDUSP, 1975, 777p.

KEFELI, V. I.; KADYROV, C. S. (1971). Natural Growth Inhibitors, their Chemical and Physiological Properties. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 22, p.185-196.

KEVERS, C; HAUSMAN, J. F; FAIVRE-RAMPANT, O; EVERS, D; GASPAR, T. H. Hormonal control of adventitious rooting: progress and questions. **Angewandte. Botanik.**, 71, p.71-79, 1997.

LEONEL, S.; RODRIGUES, J. D. Efeitos da aplicação de reguladores vegetais e do ácido bórico em estacas de lichieira (*Litchi chinensis* SONN.). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 50, n. 1, p. 33-39, 1993.

MAYNARD, B. K.; BASSUK, N. L. Etiolation and banding effects on adventitious root formation. In: DAVIS, T. D.; HAISSIG, B. E.; SANKHLA, N. **Adventitious root formation in cuttings**, Portland, Oregon: Dioscorides Press, 1988, 314p.

NACHTIGAL, J. C.; HOFFMANN, A.; KLUGE, R. A.; FACHINELLO, J. C.; MAZZINI, A. R. A. Enraizamento de estacas semilenhosas de araçazeiro (*Pisidium cattleyanum* Sabine) com o uso do ácido indolbutírico, **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 16, n. 1, p. 229-235, 1994.

NICOLOSO F. T.; LAZZARI M.; FORTUNATO R. P., Propagação vegetativa de *Platanus acerifolia* Ait.: (I) Efeito de tipos fisiológicos de estacas e épocas de coleta no enraizamento de estacas, **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n.3, p. 479-485, 1999.

NOJOSA, G. B.; REZENDE, M. L. V.; AGULAR, M. A.G.; BEZERRA, K. M. T.; ANHERT, D.E. Componentes fenólicos e enzimas oxidativas em clones de *Theobroma cacao*, **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 2, p. 148-154, 2003.

OLIVEIRA JUNIOR, E. N.; SANTOS, C. D.; ABREU, C. M. P.; CORRÊA, A. D.; SANTOS, J. Z. L. Alterações pós-colheita da "fruta-de-lobo" (*Solanum lycocarpum* St. Hil.) durante o amadurecimento: análises físico-químicas, químicas e enzimáticas, **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 26, n. 3, p. 410-413, 2004.

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

ONO, E. O; RODRIGUES, J. D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Jaboticabal: FUNEP, 1996, 83p.

PAIVA, H. N.; GOMES, J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Viçosa: Imprensa Universitária UFV, 1993, 40p.

PALANISAMY, K.; SUBRAMANIAN, K. Vegetative propagation of mature teak trees (*Tectona grandis* L.). **Silvae Genetica**, Frankfurt, v.50, n. 5-6, p. 188-191, 2001.

PEREIRA, M.; OLIVEIRA, A. L.; GONÇALVES, A. N.; ALMEIDA, M. Efeitos de substratos, valores de pH, concentrações de AIB no enraizamento de estacas apicais de jaboticabeira [*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O. Berg.], **Scientia Florestalis**, n. 69, p. 84-92, 2005.

PIGNATTI, G.; CROBEDDU, S. Effects of rejuvenation on cutting propagation of Mediterranean shrub species, **Forest**, v. 2, n.3, p. 290-295, 2005.

PINTO, L. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R.; KOEHLER, H.S. Indução do enraizamento de araticum-de-porca pela aplicação de fitorreguladores, **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 4, n. 1-2, p. 41-45, 2003.

PORFÍRIO-DA-SILVA, V. Arborização de pastagens: I - Procedimento para introdução de árvores em pastagens convencionais, **Comunicado Técnico Embrapa Florestas**, Colombo, n. 155, 2006, 8p.

ROCHA, M. G. B. **Melhoramento de espécies arbóreas nativas**. Minas Gerais: Instituto Estadual de Florestas, 2002, 171p.

RODRIGUES, A. C.; DINIZ, A. C.; FACHINELLO, J. C.; SILVA, J. B.; FARIA, J. L. C. Peroxidases e fenóis totais em tecidos de porta-enxertos de *Prunus* sp. nos períodos de crescimento vegetativo e dormência, **Ciência Rural**, v. 32, n. 4, p 559-564, 2002.

SALOMÃO, L. C.; PEREIRA, W. E.; DUARTE, R. C. C.; SIQUEIRA, D. L. Propagação vegetativa dos maracujazeiros doce (*Passiflora alata* Dryand.) e amarelo (*P. edulis* f. *flavicarpa* O. Deg.), **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 163-167, 2002.

SANTOS, G. A. 75f. **Propagação vegetativa de mogno, cedro rosa, jequitibá rosa e angico vermelho por miniestaquia**. Viçosa, Monografia (Graduação). Universidade Federal de Viçosa, 2002.

SCHUCH, M. W., DE ROSSI, A. DAMIANI, C. R., SOARES, G.C. Aib e substrato na produção de mudas de mirtilo cv. "Clímax" através de microestaquia. **Ciência rural**, Santa Maria, v. 37, n. 5, p.1446-1449, 2007.

SEITZ, R. 114 f. **Algumas características ecológicas e silviculturais do vassourão-branco**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 1976.

SHARRY, S. **Problemas asociados al cultivo de tejidos de especies leñosas**. In: IV Encontro Latino-americano de Biotecnologia Vegetal, Goiás, 2001, p. 40.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005, 639p.

SOUZA, L. A.; MOSCHETA, I. S.; MORÃO, K. S. M. Fruto. In: APEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (Eds). **Anatomia Vegetal**. Viçosa: Editora da Universidade Federal de Viçosa, 2004, 438p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. São Paulo: Limed, 2004, 719p.

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

TITON, M; XAVIER, A; REIS, G. G; OTONI, W. C. Eficiência das minicepas e microcepas na produção de propágulos de clones de *Eucalyptus grandis*, **Revista Árvore**, v. 27, n. 5, p. 619-625, 2003.

TOFANELLI, M. B. D.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. 2,6-dihidroxiacetofenona no enraizamento de estacas semilenhosas de pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26 n. 2, p. 366-368, 2004.

TONIETTO, A.; FORTES, G. R. L.; SILVA, J. B. Enraizamento de miniestacas de ameixeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 373-376, 2001.

TORRES, A. G. M. 65f. **Relação entre sazonalidade, desrama e carboidrato no crescimento do eucalipto na propagação vegetativa por miniestaquia**. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba, 2003.

TROBEC, M.; STAMPAR, F.; VEBERIC, R.; OSTERC, G. Fluctuations of different endogenous phenolic compounds and cinnamic acid in the first days of the rooting process of cherry rootstock 'GiSela 5' leafy cuttings, **Journal of plant physiology**, v. 162, p. 589-597, 2005.

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

WENDLING, I.; XAVIER, A.; GOMES, J. M.; PIRES, I. E.; ANDRADE, H. B. Efeito do regulador de crescimento AIB na propagação de clones de *Eucalyptus spp.* por miniestaquia. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 24, n. 2, p. 187-192, 2000.

WENDLING, I. 105f. **Rejuvenescimento de clones de *Eucalyptus grandis* por miniestaquia seriada e micropropagação.** Tese (Doutorado em Ciência Florestal). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2002.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Miniestaquia seriada no rejuvenescimento de *Eucalyptus*, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n. 4, p.475-480, 2003.

WENDLING, I.; XAVIER, A.; PAIVA, H. N. Influência da miniestaquia seriada no vigor de minicepas de clones de *Eucalyptus grandis*, **Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 5, p. 611-618, 2003.

WENDLING, I.; XAVIER, A. 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.; FERRARI, M. P.; DUTRA, L. F. Produção de mudas de corticeira-do-mato (*Erythrina falcata* Benth) por miniestaquia a partir de propágulos juvenis, **Comunicado Técnico Embrapa Florestas**, Colombo, n.130, Outubro, 2005.

WENDLING, I.; FERRIANI, A. P.; BIASSIO, A.; HEBERLE, M.. Miniestacas de origem juvenil e adulta e concentrações de ácido indolbutírico na miniestaquia de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). In: Congreso Sudamericano de la yerba mate, 4, Misiones. **Anais...** Misiones, Argentina, 2006.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F.; GROSSI, F. Produção e sobrevivência de miniestacas e minicepas de erva-mate cultivadas em sistema semi-hidropônico, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 2, p. 289-292, 2007.

WIESMAN, Z.; LAVEE, S. Relationship of carbohydrate sources and indole-3butyric acid in olive cuttings. **Australian Journal of Plant Physiology**. Melbourne, v. 22, p.811-816, 1995.

XAVIER, A.; SANTOS, G. A. Clonagem de espécies florestais nativas. In ROCHA, M. G. B. **Melhoramento de espécies arbóreas nativas**. Minas Gerais, Instituto Estadual de Florestas, 2002, 171p.

XAVIER, A.; SANTOS, G. A.; OLIVEIRA, M. L. Enraizamento de miniestaca caulinar e foliar na propagação vegetativa de cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell.), **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n.3, p.351-356, 2003.

ZOBEL, B.; TALBERT J. Vegetative propagation. In: **Applied forest tree improvement**. North Carolina State University, 1984, 505p.

3 Capítulo I: MINIESTAQUIA DE *Piptocarpha angustifolia* DUSÉN EX. MALME

RESUMO

Piptocarpha angustifolia Dusén ex. Malme é uma espécie arbórea nativa brasileira pioneira, pertencente à Floresta Ombrófila Mista. Apresenta características para recuperação de ecossistemas degradados e implantação em sistemas agrossilvipastoris. Sua propagação pela via seminal é prejudicada pela produção irregular e número reduzido de sementes viáveis. Além disso, a propagação vegetativa pela estaquia de ramos semilenhosos não apresentou resposta para enraizamento adventício. Tendo em vista a necessidade de mudas que contemplem as características desta espécie, foi utilizada a técnica da miniestaquia com a finalidade de promover o enraizamento adventício em propágulos de origem seminal. As minicepas formadas por mudas originadas de sementes, foram conduzidas sob sistema semi-hidropônico e fertirrigação diária contendo solução de macro e micronutrientes. Os experimentos foram realizados durante a anos de 2007 e 2008 com a finalidade de verificar a sobrevivência das minicepas, a produtividade de brotações e enraizamento das miniestacas. As brotações coletadas foram imersas em solução de ácido ascórbico a 1% e as miniestacas confeccionadas com 5cm de comprimento e manutenção do par de folhas no ápice, instaladas em substrato contendo vermiculita média e casca de arroz carbonizada (1:1 v/v). As avaliações foram realizadas após 90 dias para as variáveis porcentagem de miniestacas enraizadas, número e comprimento médio de raízes por miniestaca, porcentagem de miniestacas vivas, com calos e mortas. A maior produção de miniestacas foi verificada nas épocas do inverno e primavera, variando entre 113,4 e 259,2 miniestacas por metro quadrado ao mês. O enraizamento adventício chegou a 45% na época do inverno com número de raízes igual a 6,3 e comprimento médio de 9,8cm sem utilização de regulador vegetal.

Palavras-chave: Vassourão-branco; enraizamento; miniestaquia; juvenilidade; brotações.

3 CHAPTER I: MINICUTTING OF *Piptocarpha angustifolia* Dusén EX. MALME

ABSTRACT

Piptocarpha angustifolia Dusén ex. Malme (Asteraceae) is a Brazilian native and pioneer tree species, belonging to Mixed Rain Forest. It presents characteristics to ecosystem restoration and introduction in forest, agriculture and pasture systems. Its propagation presents difficulties by seed way for irregular production and reduced number of feasible seeds. Its vegetative propagation by cutting of mature plant with semihardwood shoots didn't present rooting response. This work aimed outlets production to use particular characteristics. The minicutting technique was tried to promote adventitious rooting in propagules by seeds. The minisprouts were formed by seed and maintained in a greenhouse in *Embrapa Florestas*, Colombo county, Paraná state, conducted by semihydroponic system and fertilization with macro and micronutrients. The experiments were realized during 2007 and 2008 years to verify the survival of ministumps, production of sprouts and minicuttings rooting. The sprouts collected were dipped in acid ascorbic solution (1%) and minicuttings were produced with 5cm length maintaining a pair of leaves in the apex installed in a medium with vermiculite and carbonized rice husk (1:1 v/v). The evaluation was made after 90 days to variables percentage of rooting minicuttings, number and length average for minicuttings, percentage of alived minicuttings, percentage of minicuttings with callus and dead minicuttings. The higher production of minicuttings was verified in winter and spring, varying between 113,4 to 259,2 units for square meter a month in most high temperatures. The adventitious rooting reached to 45% in winter with 6,3 roots and 9,8cm average of length without use of plant growth regulator.

Key words: vassourão-branco, rooting, minicutting, juvenility, sprouts

3.1 INTRODUÇÃO

Piptocarpha angustifolia Dusén ex. Malme (Asteraceae), conhecida pelo nome popular de vassourão-branco, é uma espécie nativa das regiões sudeste e sul do Brasil recomendada para processos de recuperação de ecossistemas e sistemas agrossilvipastoris (CARPANEZZI, 2005). Apresenta produção irregular de sementes, com número elevado de propágulos estéreis, além da baixa viabilidade das mesmas (SEITZ, 1976; CARVALHO, 2003; FERRIANI; BORTOLINI; NOGUEIRA, 2005; FOSSATI, 2007).

Experimentos de estaquia com a utilização de estacas semilenhosas sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico realizadas nas quatro épocas de coleta do ano demonstraram a inviabilidade do processo de enraizamento adventício para esta espécie (FERRIANI, 2006). Tais resultados apontaram a necessidade de pesquisas sobre a utilização de rejuvenescimento do material em estudo.

A miniestaquia é uma técnica de propagação vegetativa derivada da estaquia convencional. Consiste na utilização de brotações de plantas propagadas pelo processo de estaquia ou mudas produzidas por sementes (ALFENAS *et al.*, 2004), dispensando o rejuvenescimento *in vitro* (WENDLING *et al.*, 2000). É uma alternativa que pode suprir a necessidade do resgate da juvenilidade do material vegetativo, apontada por diversos autores como limitante da capacidade de indução radicial gerada pelo processo de maturação (BONGA, 1982; ZOBEL; TALBERT, 1984; HARTMANN, 2002).

O desenvolvimento da técnica teve início na década de 90 para o gênero *Eucalyptus* (HIGASHI, SILVEIRA, GONÇALVES, 2000), devido às limitações impostas pelo cultivo *in vitro* (WENDLING, 2002; ALMEIDA *et al.*, 2007). Sua aplicação tem possibilitado a propagação de genótipos de difícil enraizamento, com ampliação da porcentagem de miniestacas enraizadas e melhoria do sistema radicial, influenciando diretamente o desempenho de mudas em campo (ALFENAS *et al.*, 2004). Estes aspectos são apontados por Xavier e Santos (2002) como contribuição significativa para ampliação da base silvicultural de espécies nativas com fins econômicos, recuperação de áreas degradadas (RAD) e recuperação de ecossistemas degradados (RED) (CARPANEZZI, 2005), possibilitando também o resgate de genótipos adultos

de interesse. Além disso, pode representar uma alternativa potencialmente viável para espécies lenhosas cujo processo de estaquia convencional resulta em percentual de enraizamento variável e baixa qualidade na formação de raízes (SOUZA; ALMADO, 2002).

O interesse na introdução da miniestaquia para diversas espécies está relacionado à redução da área produtiva (adoção de minijardim clonal), diminuição do período de enraizamento e aclimatação, além da redução da utilização de reguladores vegetais para indução do enraizamento (HIGASHI; SILVEIRA; GONÇALVES, 2000; XAVIER *et al.*, 2003; WENDLING, FERRARI; DUTRA, 2005). A técnica promoveu a redução da área do jardim clonal, o qual passou a ser chamado de minijardim clonal. Este pode ser implantado em sistema de recipientes, que variam desde vasos de polipropileno de diferentes volumes, caixas de fibra de vidro com variadas formas e dimensões, ou em sistemas de canaletões de fibra-cimento, atualmente o mais utilizado pelas empresas florestais (HIGASHI; SILVEIRA; GONÇALVES, 2002).

Atualmente, a miniestaquia constitui-se o método mais adotado pelas empresas florestais brasileiras para clonagem de *Eucalyptus* (ALMEIDA *et al.*, 2007), onde as empresas têm optado por canaletões de alvenaria de maiores dimensões (ASSIS; MAFIA, 2007) visando maior desenvolvimento do sistema radicular para minicepas geradas por sementes ou provenientes de estacas enraizadas. Além disso, essa técnica pode ser adaptada à realidade de pequenos e médios proprietários rurais para produção de mudas destinadas plantios dirigidos ou para utilização em processos de recuperação, gerando incremento de renda.

Pesquisas referentes à miniestaquia são pertinentes ao desenvolvimento de protocolos para produção de espécies nativas, frente à demanda de mudas verificada na atualidade. Nesse sentido, este trabalho teve como objetivos avaliar a sobrevivência de minicepas, a produtividade de brotações (miniesticas) de *P. angustifolia* ao longo de coletas sucessivas e o enraizamento desses propágulos instalados em diferentes épocas do ano.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Aquênios de *P. angustifolia* (APÊNDICE 1-C) foram coletados no bairro Barreirinha, município de Curitiba, estado do Paraná, no mês de dezembro de 2006, sendo beneficiados em seguida para coleta das sementes. A semeadura ocorreu imediatamente após a coleta, em substrato preparado com vermiculita e casca de arroz carbonizada na proporção 1:1. Após 90 dias (março de 2007), as plântulas (APÊNDICE 1-D) foram transplantadas para tubetes (55cm³) contendo o mesmo substrato, sendo mantidas em casa-de-vegetação sob sistema de nebulização intermitente (25°C ± 2, e umidade superior a 80%).

Para a realização da miniestaquia, em agosto de 2007, mudas com idade de 8 meses (altura média de 30cm) foram transferidas para a estufa, sob sistema semi-hidropônico (canaletão) e sofreram poda dos ápices para estímulo à produção de brotações. O número total de minicepas foi de 160, sendo 80 instaladas em canaletão (APÊNDICE 2-A) contendo areia média lavada e outras 80 instaladas em porta-mudas de polietileno com capacidade de 1700cm³, contendo mistura de casca de arroz carbonizada e vermiculita média, na proporção 1:1 (v/v).

As minicepas instaladas em canaletão (APÊNDICE 2-A) receberam solução nutritiva previamente formulada, utilizada por Brondani (2008) para *Eucalyptus benthamii* x *dunnii*, por gotejamento três vezes ao dia a uma vazão total diária de 5Lm⁻². A solução nutritiva foi composta por monoamônio fosfato (0,04gL⁻¹), sulfato de magnésio (0,40gL⁻¹), nitrato de potássio (0,44gL⁻¹) sulfato de amônio (0,31gL⁻¹), cloreto de cálcio (0,79gL⁻¹), ácido bórico (2,88mgL⁻¹), sulfato de manganês (3,70mgL⁻¹), molibdato de sódio (0,18mgL⁻¹), sulfato de zinco (0,74mgL⁻¹) e hidroferro em pó (81,80mgL⁻¹). As minicepas mantidas em porta-mudas receberam fertirrigação semanal, composta de sulfato de amônio (4gL⁻¹) ou uréia (2gL⁻¹), superfosfato simples (1gL⁻¹), cloreto de potássio (4gL⁻¹), fertilizante FTE BR 10 (1gL⁻¹).

Ao longo das observações verificou-se sintomas de fitotoxicidade nas folhas das minicepas de *P. angustifolia* (APÊNDICE 2-B) em função da

fertirrigação estabelecida como protocolo para *Eucalyptus*, cujas minicepas compartilhavam a área do mesmo canaletão. Como medida preventiva foi adotada rega diária com água pura no período da tarde para diluição da fertirrigação padrão. Nesse período de aclimatação das minicepas, foi observada a superioridade de crescimento das minicepas mantidas em canaletão contendo areia em relação ao sistema de porta-mudas.

A coleta de brotações teve início no mês de outubro de 2007, coincidindo com o início dos experimentos de miniestaquia (APÊNDICE 2-C). Como medida preventiva à oxidação verificada em outras instalações, optou-se pela imersão das bases das brotações em soluções a 1% de ácido ascórbico.

Cada miniestaca foi confeccionada utilizando-se as brotações obtidas das minicepas, desprezando-se a porção apical, mantendo-se comprimento aproximado de 5cm, diâmetro de 0,5cm, corte em bisel na base e reto na porção superior, mantendo-se duas folhas com área reduzida à metade, com objetivo de reduzir a perda de água pela transpiração foliar. Durante o processo de confecção, as estacas foram mantidas em baldes com água para evitar desidratação, lavadas em água corrente, não sendo realizado tratamento de desinfestação das mesmas.

Após 90 dias da instalação foram analisadas as seguintes variáveis: porcentagem de miniestacas enraizadas, porcentagem de miniestacas com calos (sem raízes e com calos), porcentagem de miniestacas vivas (sem raízes e sem calos) e porcentagem de miniestacas mortas, número médio de raízes por miniestaca e comprimento médio das três maiores raízes por miniestaca. O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado composto por quatro tratamentos (períodos de coleta de miniestacas) correspondentes a primavera (22 de setembro a 21 de dezembro), verão (22 de dezembro a 21 de março), outono (22 de março a 21 de junho) e inverno (22 de junho a 21 de setembro) formado por quatro repetições de 20 miniestacas por parcela, totalizando 80 miniestacas em cada época. A homogeneidade das variâncias dos tratamentos foi testada pelo teste de Bartlett e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade. Para a realização da análise estatística foi utilizado o programa MSTAT-C[®], versão

2.10 (Russel D. Freed, MSTAT Director, Crop and Soil Science Department, Michigan State University, E.U.A).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Sobrevivência de minicepas e produção de brotações

A Tabela 1 apresenta os resultados da produção de brotações (miniestacas) provenientes de minicepas de *P. angustifolia* ao longo de 13 coletas sucessivas durante o período de outubro de 2007 a dezembro de 2008.

As avaliações realizadas demonstraram que a época de coleta correspondente à primavera de 2008 foi o período de maior média de produtividade de brotações, seguida das épocas do inverno e outono. Estes resultados concordaram parcialmente com os obtidos com Brondani (2008), que verificou a superioridade da produção de brotações em clones de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage x *Eucalyptus dunnii* Maiden nas estações da primavera e verão.

Considerando-se as médias gerais de brotações por minicepa, a primavera constituiu o período de maior produtividade em duas épocas (N= 5,1 e N= 6,7), seguida do inverno (N=4,9), outono (N=4,8) e verão (N=4,4). Porém quando foram comparadas as produtividades das minicepas dentro de cada época, a produtividade estimada para a época da primavera alcançou 259,2 brotações por minicepa por metro quadrado, seguida pelo outono (218,7) e verão (202,5).

O verão apresentou o menor valor de produção de brotações em função da redução do número de minicepas durante o período de adaptação das minicepas ao sistema semi-hidropônico. A elevação da temperatura registrada nessa época (APÊNDICE 6) merece ser destacada, uma vez que não existe sistema de controle de temperatura na estufa onde as minicepas foram mantidas, ocasionando o estresse térmico e sensibilização dessas fontes de propágulos.

A remoção de grande número de brotações também pode constituir uma das causas da perda de minicepas, devido a concentração de nutrientes nos tecidos que pode ocasionar efeitos de fitotoxicidade. Entretanto, Torres (2003) observou que os teores de carboidratos em dois clones de eucalipto (*E. saligna* e *E. grandis*) na época do verão apresentaram aumento geral de brotações e redução do intervalo entre coletas, atribuídas à elevação da temperatura e ao uso intensivo de fertirrigação.

TABELA 1 - BROTAÇÕES DE *P. angustifolia* INSTALADAS EM CANALETÃO, COLETADAS NO PERÍODO DE 2007 E 2008, COLOMBO, 2008.

| COLETA | DATA | INTERVALO ENTRE COLETAS | Nº MINICEPAS | Nº BROTAÇÕES/ COLETA | MÉDIA BROTAÇÕES/ MINICEPA | BROTAÇÕES m ² / MÊS |
|------------------|----------|-------------------------|--------------|----------------------|---------------------------|--------------------------------|
| PRIMAVERA | | | | | | |
| 1 | 19/10/07 | | 40 | 79 | 2 | 160,3 |
| 2 | 19/11/07 | 31 | 38 | 76 | 2 | 162,0 |
| 3 | 14/12/07 | 25 | 21 | 23 | 1,1 * | 89,1 |
| MÉDIA | | 28 | 33 | | | |
| TOTAL | | | | 178 | 5,1 | 411,4 |
| VERÃO | | | | | | |
| 4 | 01/02/08 | 18 | 16 | 31 | 1,9 | 157,1 |
| 5 | 29/02/08 | 28 | 15 | 37 | 2,5 | 202,5 |
| MÉDIA | | 23 | 15 | | | |
| TOTAL | | | | 68 | 4,4 | 359,6 |
| OUTONO | | | | | | |
| 6 | 04/04/09 | 36 | 12 | 25 | 2,1 | 170,1 |
| 7 | 11/04/08 | 7 | 11 | 30 | 2,7 | 218,7 |
| MÉDIA | | 21 | 11 | | | |
| TOTAL | | | | 55 | 4,8 | 388,8 |
| INVERNO | | | | | | |
| 8 | 27/06/08 | 46 ** | 28 | 45 | 1,4 | 113,4 |
| 9 | 22/08/08 | 56 | 24 | 48 | 2,0 | 162,0 |
| 10 | 19/09/08 | 28 | 26 | 39 | 1,5 | 121,5 |
| MÉDIA | | 43 | 26 | | | |
| TOTAL | | | | 132 | 4,9 | 396,9 |
| PRIMAVERA | | | | | | |
| 11 | 24/10/08 | 35 | 24 | 36 | 1,5 | 121,5 |
| 12 | 14/11/08 | 21 | 25 | 53 | 2,0 | 162,0 |
| 13 | 19/12/08 | 36 | 24 | 76 | 3,2 | 259,2 |
| MÉDIA | | 31 | 24 | | | |
| TOTAL | | | | 165 | 6,7 | 542,7 |

* Morte de brotações ** Intervalo para reposição de minicepas e reinício das coletas

De maneira feral foi verificada a variação da produtividade de miniestacas por minicepa em relação ao período de coleta, onde períodos de temperatura mais elevada contribuíram para o desenvolvimento geral de gemas e crescimento acentuado de brotações jovens. Conforme apresentado na Tabela 1, o aumento de produtividade foi verificado nos períodos correspondentes às estações do ano com temperaturas elevadas ou em períodos atípicos onde ocorreu elevação dessa variável, corroborando com aqueles obtidos por Brondani (2008) para *E. benthamii* x *dunnii*.

O estímulo à formação de brotações proporcionado pela elevação da temperatura associado à coleta seletiva de brotações ocasionou a redução do intervalo entre coletas (coletas 4 a 7) a 20 dias (TABELA 1), o que confirma a viabilidade do sistema a partir do estabelecimento das minicepas. Outros trabalhos avaliados apresentaram intervalos médios de 30 dias (WENDLING; XAVIER, 2003; CUNHA; WENDLING; SOUZA JR., 2005; WENDLING; DUTRA; GROSSI, 2007).

Houve redução do número de minicepas ao longo do período avaliado (coletas 1 a 7), atribuída ao período de aclimação do material ao leito de enraizamento durante a implantação do minijardim clonal. A perda gradativa de minicepas nos dois tipos de instalação foi descrita por Wendling, Dutra e Grossi (2007) como dificuldade de adaptação ao sistema semi-hidropônico, em experimentos realizados para erva-mate (*Ilex paraguariensis*). Em função da alta taxa de mortalidade verificada em minicepas de *P. angustifolia*, o sistema de porta-mudas foi abandonado e as minicepas restantes foram incorporadas ao experimento conduzido no canaletão (reposição de minicepas no mês de junho de 2008).

Embora não tenha sido realizada comparação entre os sistemas de condução de minicepas da *P. angustifolia* pela inexistência de material vegetal suficiente, para a espécie *Eucalyptus benthamii* Maiden et. Cambage, houve aumento de 100% na produção de brotações obtidas de minicepas plantadas em canaletão em relação ao sistema de tubetes (CUNHA; WENDLING; SOUZA JR., 2005). Outros trabalhos também descreveram a eficiência do substrato areia em canaletão para experimentos de miniestaquia com a utilização do sistema de fertirrigação (CUNHA; WENDLING; SOUZA JR., 2003, FERRIANI, 2006).

Foi observado que as minicepas instaladas em canaletão apresentavam oxidação logo após a coleta de brotações. Tal fato pode ser relacionado à redução da área foliar proveniente das podas para remoção de brotações e pode ter contribuído para o estresse das minicepas, ocasionando a morte precoce destas, mesmo com a manutenção parcial das brotações formadas. Citações sobre o limite de remoção de brotações em cada coleta não foram observadas nos trabalhos utilizados como referência para essa pesquisa. Entretanto, Cunha, Wendling e Souza Júnior (2005) recomendam que os estresses provenientes das podas consecutivas de minicepas devam ser minimizados.

Conforme relatado por Seitz (1976), *P. angustifolia* apresentou máximos índices de atividade fotossintética sob temperatura de 18°C, o que leva a sugerir que as elevadas temperaturas registradas ao longo dessa pesquisa (APÊNDICE 6) provavelmente contribuíram para o estresse térmico e conseqüente morte do vegetal. Este fato leva a considerar que nos períodos de temperatura mais elevada, a coleta de brotações deve ser feita com cautela, evitando-se removê-las em excesso, a fim de evitar-se a perda das minicepas.

Da mesma maneira, as elevadas taxas de umidade podem ter contribuído com a perda de minicepas, uma vez que a planta intacta apresenta comportamento xerófilo, conforme descrito por Seitz (1976). Embora a manutenção de umidade seja necessária para evitar a desidratação dos propágulos, possivelmente o excesso desse recurso associado ao estresse causado pela remoção de brotações pode ter contribuído para perda desses materiais vegetais.

Foi verificado também que a instalação de minicepas de *P. angustifolia* em canaletão compartilhando a fertirrigação de *Eucalyptus* pode ter contribuído para a mortalidade das minicepas. As altas concentrações de nutrientes possivelmente causaram fitotoxicidade no material, ocasionando a redução inicial de minicepas. Dessa maneira, foi utilizada uma rega diária complementar, com a finalidade de diluir o excesso de nutrientes, o que se mostrou uma prática eficiente. Segundo Titon *et al.* (2003) a utilização de aspersão semanal contendo somente água é recomendada com a finalidade de remover o acúmulo de sais no substrato.

Comparando-se os valores de produtividade obtidos neste trabalho, houve variação entre 1,1 e 3,2 brotações por minicepa (TABELA 1), situando-se entre os valores obtidos respectivamente na miniestaquia de cedro (*Cedrella fissillis*) por Xavier *et al.* (2003), em corticeira-do-mato (*E. falcata*) por Cunha, Wendling e Souza Jr. (2003) e em jequitibá rosa (*Cariniana legalis* (Mart.) Kuntze) por Santos (2002). Entretanto, encontram-se abaixo dos valores obtidos em eucalipto, que variaram entre 1,9 e 9,7 miniestacas por minicepa (WENDLING *et al.*, 2000; TITON *et al.*, 2003; WENDLING; XAVIER; PAIVA, 2003; CUNHA; WENDLING; SOUZA JR., 2005).

Em avaliações da técnica para outras espécies, Santos (2002) utilizou sistemas de jardim miniclinal em tubetes de 200 cm³, com coletas a cada 30 dias obtendo as seguintes produções de miniestacas por minicepa: 1,3 para cedro rosa; 1,1 para mogno; 1,6 para angico vermelho e 3,8 para jequitibá rosa. Levando-se em consideração o intenso processo de melhoramento a que já foi submetido o gênero *Eucalyptus*, pode-se inferir que a partir da adequação de manejo da espécie em estudo, principalmente em termos de nutrição, será possível aumentar o número de brotações por minicepa.

Com relação à sobrevivência das minicepas pode-se verificar que apesar da redução inicial das minicepas (coletas 1 a 7), atribuídas à adaptação inicial ao sistema seguida dos possíveis sintomas posteriores de fitotoxicidade. A partir da coleta de número 8 constatou-se regularidade desse número (TABELA 1), sugerindo a adaptação do material vegetal às condições de nutrição fornecidas, o que pode ser verificado pelo número reduzido de minicepas perdidas entre as coletas 8 e 13. Essas variações do número de minicepas também foram verificadas por Wendling, Dutra e Grossi (2007) para miniestaquia de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.), onde foram realizadas onze coletas consecutivas com diminuição inicial e posterior acréscimo na produção de brotações. Estes resultados indicam a viabilidade do sistema para obtenção de propágulos e posterior desenvolvimento de outras pesquisas em propagação (WENDLING, 2002; WENDLING; XAVIER; PAIVA, 2003; FERRIANI, 2006).

Embora a utilização de fertirrigação (aérea ou por subsuperfície) contendo solução de macro e micronutrientes seja apontada como favorável

para a maior produtividade de brotações (ALFENAS *et al.*, 2004; PAIVA; GOMES, 1993), para manutenção do turgor hídrico e do *status* nutricional das minicepas

(XAVIER; SANTOS; OLIVEIRA, 2003), no caso da espécie *P. angustifolia*, essa prática pode ter sido responsável pelos sintomas de fitotoxicidade apresentados (APÊNDICE 10), em vista de não ter sido desenvolvida uma solução específica para a espécie. A sensibilidade das minicepas ao excesso de nutrição também pode estar relacionada ao hábito pioneiro dessa espécie em se estabelecer naturalmente em solos degradados e nutricionalmente deficientes (SEITZ, 1976).

Apesar da redução inicial do número de minicepas, o número de brotações apresentou elevação durante a condução dos experimentos, o que gerou volume suficiente de miniestacas para a execução dos experimentos de enraizamento.

3.3.2 Enraizamento de Miniestacas

Foram realizados 12 experimentos de miniestaquia para *P. angustifolia* no período de outubro de 2007 a dezembro de 2008. Em virtude da mortalidade precoce da maioria dos propágulos por oxidação (APÊNDICE 2-B), foram selecionados os experimentos que apresentaram suficiência amostral para execução do delineamento estatístico. Os períodos de instalação de experimentos de miniestaquia avaliados foram outubro de 2007 (primavera), janeiro (verão), abril (outono) e junho de 2008 (inverno).

A análise de variância (APÊNDICE 4) revelou que não houve efeito significativo das épocas de coleta para a variável porcentagem de miniestacas enraizadas (APÊNDICE 9), porém houve diferença significativa entre os tratamentos para as variáveis número médio de raízes e comprimento médio das três maiores raízes.

A comparação de médias (TABELA 2) dos tratamentos realizados nas épocas de coleta (primavera de 2007, outono e inverno de 2008) demonstrou que as porcentagens de enraizamento apresentaram valores médios

semelhantes para miniestacas coletadas nas épocas da primavera e inverno e superiores ao período de coleta do outono.

TABELA 2 - PORCENTAGENS DE MINIESTACAS DE *P. angustifolia* ENRAIZADAS, NÚMERO MÉDIO DE RAÍZES POR MINIESTACA E COMPRIMENTO MÉDIO DAS TRÊS MAIORES RAÍZES POR MINIESTACA, COLETADAS NA PRIMAVERA DE 2007, OUTONO E INVERNO DE 2008, CURITIBA, PR, 2008.

| ÉPOCAS DE COLETA | MINIESTACAS ENRAIZADAS (%) | NÚMERO MÉDIO DE RAÍZES | COMPRIMENTO MÉDIO RAÍZES (cm) |
|--------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|
| PRIMAVERA (Outubro de 2007) | 45,0 A | 2,7 B | 2,7 B |
| OUTONO (Abril de 2008) | 17,5 A | 1,1 C | 3,4 B |
| INVERNO (Junho de 2008) | 45,0 A | 6,3 A | 9,8 A |

Médias seguidas da mesma letra maiúscula nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Foi verificada mortalidade geral dos propágulos na avaliação realizada para miniestacas coletadas no verão, que apresentaram perda de folhas e oxidação generalizada. Mesmo sob regime de temperatura e umidade controladas, as miniestacas de *P. angustifolia* demonstraram suscetibilidade à elevação de temperatura, fato também verificado em estacas semilenhosas de *P. angustifolia* coletadas na mesma época (FERRIANI, 2006).

Embora as épocas primavera e inverno tenham apresentado as mesmas porcentagens para a variável miniestacas enraizadas de *P. angustifolia* (APÊNDICE 2-D), as variáveis número e comprimento médio de raízes por miniestaca avaliados foram numericamente superiores no inverno. Esses resultados sugerem que as mudas produzidas a partir de miniestacas coletadas nesta época podem apresentar um desempenho mais satisfatório em campo devido ao sistema radicial mais desenvolvido, o que contribui para a absorção mais eficiente de nutrientes e conseqüente crescimento da muda, conforme citado por Reis *et al.* (2000).

Os resultados de enraizamento adventício concordaram parcialmente com aqueles obtidos por Brondani (2008), que obteve as maiores porcentagens de enraizamento em miniestacas coletadas no inverno, seguida do outono para espécies de eucalipto provenientes de regiões subtropicais. Também correspondem parcialmente ao comportamento avaliado em minicepas de *Pinus taeda* L. instaladas em casa-de-vegetação e que apresentaram os maiores percentuais de enraizamento sob ambiente controlado na primavera e verão (ALCANTARA, 2005), assim como na espécie corticeira-do-mato (*Erythrina falcata* Bentham) (WENDLING; FERRARI; DUTRA, 2005). No caso de *P. angustifolia* pode-se inferir que as reservas acumuladas ao longo do outono possam ter contribuído para o enraizamento avaliado no inverno e na época seguinte (primavera). A partir desse período, com a ocorrência da elevação de temperatura e início da fase reprodutiva, as reservas possivelmente poderiam ser disponibilizadas para a formação de inflorescências e frutos, impossibilitando a iniciação radicial (FERRIANI, 2006).

O período de permanência das miniestacas de *P. angustifolia* em casa-de-vegetação foi ampliado para 90 dias, uma vez que experimentos preliminares com períodos menores exibiram elevado número de miniestacas com formação de calos. Esse período difere consideravelmente para outras espécies, que foram mantidas no leito de enraizamento por um período médio de 30 dias, conforme verificado em corticeira-do-mato (*E. falcata*) por Wendling; Ferrari; Dutra, (2005), em eucalipto (*E. grandis*) (WENDLING; XAVIER, 2003) e para cedro (*C. fissilis*) (XAVIER; SANTOS; OLIVEIRA, 2003).

Foi observado que a imersão da base das miniestacas em solução aquosa contendo 1% de ácido ascórbico pode ter contribuído para a sobrevivência das miniestacas, favorecendo o processo de enraizamento adventício. Esta prática foi utilizada com a finalidade de inibir o processo de oxidação das bases dos propágulos, a qual gera o escurecimento dos tecidos e conseqüente morte, impedindo o processo de iniciação radicial. Embora este procedimento não tenha sido citado em pesquisas envolvendo estaquia ou miniestaquia, a utilização de compostos antioxidantes, como polivinilpirrolidona (PVP), ácido cítrico (FERRARI; GROSSI; WENDLING, 2004) e ácido ascórbico

têm sido amplamente verificada em meios de cultura para inibição da oxidação em cultura de tecidos. Além disso, a aplicação desses compostos foi citada como significativa na enxertia de culturas como erva-mate (*Ilex paraguariensis*) (FERRARI; GROSSI; WENDLING, 2004). Dessa maneira esta prática preventiva pode ser difundida para metodologias que impliquem em injúria de tecidos que possam apresentar esta característica.

A alteração do comprimento das miniestacas foi realizada na tentativa de manter os propágulos vivos por um período maior em casa-de-vegetação, estimulando assim o processo de enraizamento adventício. Embora as dimensões das miniestacas citadas em outras pesquisas estejam situadas entre 2 a 5 cm, no presente trabalho estas medidas foram alteradas e passaram a apresentar 6 ou 7 centímetros de comprimento e diâmetros iguais ou maiores que 0,5 centímetro.

3.3.3 Miniestacas com Calos, Vivas e Mortas

A análise de variância (APÊNDICE 5) revelou que houve efeito significativo dos tratamentos para as variáveis porcentagem de miniestacas com calos, porcentagem de miniestacas vivas e porcentagem de miniestacas mortas.

Os valores médios das variáveis porcentagem de miniestacas com calos (TABELA 3), demonstraram que a época do outono apresentou o maior valor numérico, seguido da primavera e inverno, respectivamente. Devido às elevadas porcentagens observadas dessas duas variáveis, após as avaliações as miniestacas foram mantidas em casa-de-vegetação na tentativa de promover o enraizamento posterior, fato não confirmado devido à morte desses propágulos sem formação de raízes.

TABELA 3 - PORCENTAGENS MÉDIAS DE MINIESTACAS DE *P. angustifolia* COM CALOS, VIVAS E MORTAS, COLETADAS NA PRIMAVERA DE 2007, OUTONO E INVERNO DE 2008

| ÉPOCAS DE COLETA | MINIESTACAS COM CALOS (%) | MINIESTACAS VIVAS (%) | MINIESTACAS MORTAS (%) |
|--------------------------------|---------------------------|-----------------------|------------------------|
| PRIMAVERA (Outubro de 2007) | 8,8 B | 3,8 B | 42,5 AB |
| OUTONO (Abril de 2008) | 37,5 A | 25,0 A | 20,0 B |
| INVERNO (Junho de 2008) | 5,0 B | 0,0 C | 50,0 A |

Médias seguidas da mesma letra maiúscula nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Com relação à porcentagem de miniestacas mortas, a época do inverno e primavera apresentaram médias estatisticamente semelhantes, sendo o inverno a época de coleta com valor médio numericamente superior. Conforme foi observado ao longo dos experimentos, o manuseio durante a confecção das estacas pode ter contribuído para a elevada taxa de mortalidade, apesar da imersão prévia em solução de ácido ascórbico.

Considerando a soma das porcentagens de estacas enraizadas e com calos, miniestacas instaladas no outono apresentaram valor mais elevado de estacas propensas ao enraizamento, seguido da primavera, o que concorda com os resultados obtidos por Ferriani (2006) para estacas semilenhosas da mesma espécie. Tais resultados sugerem que o armazenamento de reservas realizado pela espécie nas épocas de temperatura mais baixas possivelmente contribuíram para o processo de iniciação radicial.

A Figura 1 apresenta uma síntese do comportamento verificado para as variáveis miniestacas enraizadas, miniestacas com calos, miniestacas vivas e mortas ao longo das três épocas de coleta avaliadas.

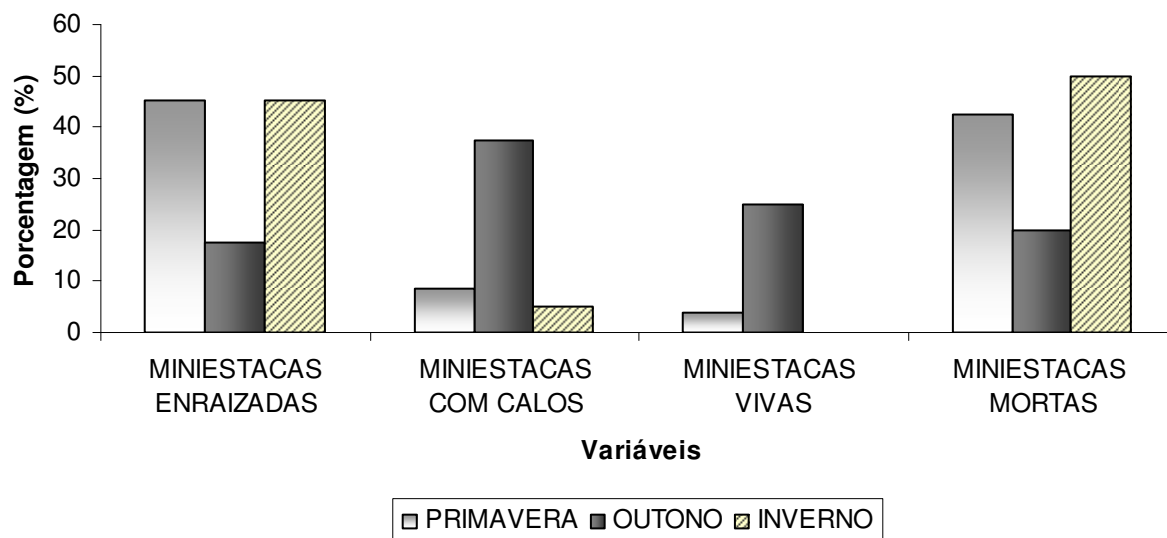


FIGURA 1 - RESULTADOS DAS VARIÁVEIS PORCENTAGENS DE MINIESTACAS DE *P. angustifolia* ENRAIZADAS, MINIESTACAS COM CALOS, MINIESTACAS VIVAS E MINIESTACAS MORTAS ENTRE AS ESTAÇÕES AVALIADAS

Pela análise conjunta das variáveis nas épocas analisadas, foi possível verificar que a primavera pode ser considerada a época de coleta onde ocorreu a soma das porcentagens de propágulos potencialmente aptos ao enraizamento (miniestacas enraizadas, com calos e vivas), entretanto, tal potencialidade não foi concretizada pela morte do material antes da emissão de raízes. Dessa maneira, a época do inverno apresentou as porcentagens de enraizamento semelhante à primavera, apesar do elevado valor de mortalidade de propágulos verificado.

A mortalidade elevada observada para as miniestacas mantidas em casa-de-vegetação pode ser justificada pelo excesso de umidade no ambiente de enraizamento. Este fator contribuiu para o processo de necrose e morte dos propágulos, tornando-se uma condição a ser considerada de maneira significativa, especialmente para espécies como *P. angustifolia*, cujo estabelecimento natural é característico em áreas que apresentam solos drenados (SEITZ, 1976; INOUE; RODERJAN; KUNIYOSHI, 1984). Tal observação sugere que, embora o material vegetal necessite de umidade elevada para evitar a desidratação, deve-se levar em conta as particularidades

das espécies, a fim de garantir a sobrevivência dos propágulos e a formação de raízes adventícias.

A avaliação das minicepas enraizadas e transferência de recipiente não permitiu que as mudas obtidas fossem acompanhadas até a fase de rustificação, uma vez que a partir desse manejo o material passou a demonstrar sinais de oxidação e morte posterior. Segundo Leonardo Dutra (observação pessoal, fevereiro de 2008) o manuseio para avaliação do número e comprimento das raízes pode comprometer o sistema radicial adventício, impedindo o estabelecimento das mudas em outros recipientes.

3.4 CONCLUSÕES

A sobrevivência das minicepas de *P. angustifolia* apresenta variações de acordo com a época o ano;

A produção de brotações (miniesticas) de *P. angustifolia* apresentou valores superiores na primavera, outono e verão;

Miniesticas coletadas nas épocas do inverno e primavera apresentaram as maiores porcentagens de enraizamento adventício (45%), porém o número e comprimento de raízes foram superiores no inverno.

REFERÊNCIAS

ALCANTARA, G. B. 77f. **Miniestaquia de *Pinus taeda* L.** Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2005.

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

ALMEIDA, F. D.; XAVIER, A.; DIAS, J. M. M.; PAIVA, H. N. Eficiência das auxinas (AIB e ANA) no enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus cloeziana* F. Muell. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 31, n. 3 , p. 455-463, 2007.

ASSIS, T. F. de; MAFIA, R. G. Hibridação e clonagem. In: BORÉM, A. (Ed.) **Biotecnologia florestal.** Viçosa: Suprema Gráfica e Editora LTDA, p. 93-121, 2007.

BONGA, J. M. Vegetative propagation in relation to juvenility, maturity and rejuvenation. In BONGA, J.M; DURZAN, D.J. **Tissue culture in forestry.** Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk, The Hague, p. 387-412, 1982.

BRONDANI, G. E. 130f. **Miniestaquia e micropropagação de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage X *Eucalyptus dunii* Maiden.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2008.

CARPANEZZI, A. A. Fundamentos para a reabilitação de ecossistemas florestais. In: GALVÃO, A. P. M.; PORFÍRIO-DA-SILVA, V. (org.). **Restauração florestal: Fundamentos e Estudos de Caso**, Colombo: *Embrapa Florestas*, p. 27-45, 2005.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras.** Brasília: Embrapa Informação Técnica, 2003, 1039 p.

CUNHA, A. C. M. C. M.; WENDLING, I.; SOUZA JÚNIOR, L. Influência da presença ou ausência de folhas no enraizamento de miniestacas de corticeira-do-mato (*Erythrina falcata* Bentham) obtidas em sistema hidropônico, **Comunicado Técnico Embrapa Florestas**, Colombo, n° 89, 2003.

CUNHA, A. C. M. C. M.; WENDLING, I.; SOUZA JÚNIOR, L. Produtividade e sobrevivência de minicepas de *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cambage em sistema de hidroponia e em tubete, **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 15, n. 3, p. 307-310, 2005.

FERRARI, M.; GROSSI, F.; WENDLING, I. Influência da utilização de antioxidante na enxertia de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hillaire). Colombo: Embrapa, **Comunicado Técnico**, n. 109, 2004, 3p.

FERRIANI, A. P.; BORTOLINI, M. F.; NOGUEIRA, A.C. **Comportamento germinativo de sementes de vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia* Dusén) sob diferentes temperaturas e substratos.** In: Congresso Brasileiro de sementes, Foz do Iguaçu, 2005. Informativo ABRATES, v. 15, n. 1-3, agosto, 2005.

FERRIANI, A. P. 100f. **Estaquia de vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia* Dusén) com uso do ácido indol-butírico.** Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal), Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2006.

FOSSATI, L. C. 160f. **Ecofisiologia da germinação das sementes em populações de *Ocotea puberula* (Rich.) Ness, *Prunus sellowii* Koehne e *Piptocarpha angustifolia* Dusén Ex Malme.** Tese (Doutorado em Ciências Florestais). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2007.

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

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. A.; GONÇALVES, A. N. Propagação vegetativa de *Eucalyptus*: princípios básicos e sua evolução no Brasil, **Circular Técnica IPEF**, n. 192, São Paulo: Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, 2000.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. de A.; GONÇALVES, A. N. Nutrição e adubação em minijardim clonal hidropônico de *Eucalyptus*. **Circular Técnica IPEF**, n. 194, São Paulo: Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, 2002, 21 p.

INOUE, M. T.; RODERJAN, C. V.; KUNIYOSHI, Y. S. **Projeto madeira do Paraná.** Curitiba, Fundação de pesquisas florestais do Paraná, 1984, 260p.

PAIVA, H. N.; GOMES, J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais.** Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1993, 40p.

REIS, J. M. R; CHALFUN, N. N. J; LIMA, L. C. O; LIMA, L. C. Efeito do estiolamento e do ácido indol butírico no enraizamento de estacas do porta-enxerto *Pyrus calleryana* Dcne. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.24, n.4, p.931-938, 2000.

SANTOS, G. A. 75f. **Propagação vegetativa de mogno, cedro rosa, jequitibá rosa e angico vermelho por miniestaquia.** Monografia (Graduação). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2002.

SEITZ, R. A. 114 f. **Algumas características ecológicas e silviculturais do vassourão-branco**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 1976.

SOUZA, M. R.; ALMADO, R. P. Produção de mudas na CAF Santa Bárbara Ltda. Miniestaquia clonal em *Eucalyptus* sp. In ROCHA, M. G. B. **Melhoramento de espécies arbóreas nativas**. Minas Gerais: Instituto Estadual de Florestas, 2002, 171p.

TITON, M; XAVIER, A; REIS, G. G; OTONI, W. C. Eficiência das minicepas e microcepas na produção de propágulos de clones de *Eucalyptus grandis*, **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 5, p. 619-625, 2003.

TORRES, A. G. M. 65f. **Relação entre sazonalidade, desrama e carboidrato no crescimento do eucalipto na propagação vegetativa por miniestaquia**. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba, 2003.

WENDLING, I.; XAVIER, A.; GOMES, J. M.; PIRES, I. E.; ANDRADE, H. B. Efeito do regulador de crescimento AIB na propagação de clones de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 24, n. 2, p. 187-192, 2000.

WENDLING, I. 105f. **Rejuvenescimento de clones de *Eucalyptus grandis* por miniestaquia seriada e micropropagação**. Tese (Doutorado em Ciência Florestal). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2002.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Miniestaquia seriada no rejuvenescimento de *Eucalyptus*, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n. 4, p.475-480, 2003.

WENDLING, I.; XAVIER, A.; PAIVA, H. N. Influência da miniestaquia seriada no vigor de minicepas de clones de *Eucalyptus grandis*, **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 5, p. 611-618, 2003.

WENDLING, I.; FERRARI, M. P.; DUTRA, L. F. Produção de mudas de corticeira-do-mato (*Erythrina falcata* Bentham) por miniestaquia a partir de propágulos juvenis, **Comunicado Técnico Embrapa Florestas**, Colombo, n.130, Outubro, 2005.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F.; GROSSI, F. Produção e sobrevivência de miniestacas e minicepas de erva-mate cultivadas em sistema semi-hidropônico, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 2, p. 289-292, 2007.

XAVIER, A.; SANTOS, G. A. Clonagem de espécies florestais nativas. In ROCHA, M. G. B. **Melhoramento de espécies arbóreas nativas**. Minas Gerais, Instituto Estadual de Florestas, 2002,171p.

XAVIER, A.; SANTOS, G. A.; OLIVEIRA, M. L. Enraizamento de miniestaca caulinar e foliar na propagação vegetativa de cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell.), **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n.3, p.351-356, 2003.

XAVIER, A.; SANTOS, G. A.; WENDLING, I.; OLIVEIRA, M. L. Propagação vegetativa de cedro-rosa por miniestaquia, **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n.2, p.139-143, 2003.

ZOBEL, B.; TALBERT J. Vegetative propagation. In: **Applied forest tree improvement**. North Carolina State University, 1984, 505p.

4 CAPÍTULO II: QUANTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS EM DIFERENTES PROPÁGULOS DE *Piptocarpha angustifolia* DUSÉN EX. MALME

RESUMO

Os compostos fenólicos são gerados pelo metabolismo secundário vegetal, atuando em diversos eventos fisiológicos, incluindo o enraizamento adventício. Os polifenóis têm sido citados pelo efeito na promoção da formação de raízes, embora existam poucas referências nesse sentido. A espécie *Piptocarpha angustifolia* Dusén ex. Malme é um representante arbóreo da família Asteraceae de comportamento pioneiro, pertencente à Floresta Ombrófila Mista, indicada para recuperação de ecossistemas degradados e implantação em sistemas agrosilvipastoris. Pela dificuldade da propagação via seminal devido a irregularidade de produção e número reduzido de sementes, além do não enraizamento adventício de material adulto, buscou-se nesse trabalho quantificar os polifenóis presentes em diferentes fontes de material vegetal, com a finalidade de evidenciar a presença desses compostos relacionados ao potencial rizogênico dos propágulos. Foram utilizadas miniestacas provenientes de ramos adultos da planta intacta em campo (MA), brotações cultivadas em casa-de-vegetação sob sistema semi-hidropônico (MI), miniestacas instaladas previamente que apresentavam formação de calos (MC) e miniestacas enraizadas (ME). A partir de cada amostra, foram preparados extratos brutos com os quais foi realizada a metodologia para extração de polifenóis totais (PET) utilizando a curva-padrão do ácido gálico e leitura em espectrofotômetro. O material adulto apresentou a menor concentração de polifenóis, enquanto os materiais juvenis apresentaram concentrações superiores e crescentes de acordo com a fase de indução em cada propágulo.

Palavras-chave: vassourão-branco, juvenilidade, fenóis, enraizamento

4 CHAPTER II: POLYPHENOLS QUANTIFICATION IN DIFFERENT PROPAGULES OF *Piptocarpha angustifolia* DUSÉN EX. MALME

ABSTRACT

The phenolic compounds are generated by secondary plant metabolism and act in a lot of physiological events including rooting response. The polyphenols have been quoted by effect in rooting formation although exist few citations in this case. The species *Piptocarpha angustifolia* Dusén ex. Malme is a tree representant of Asteraceae family with pioneer behavior, belonging to Mixed Rain Forest used to restoration ecosystem and introduction in forest, agriculture and pasture systems. By difficulties of propagation with seeds that have irregular production and reduced number of feasible seeds the mature shoots didn't presents rooting response. This work aimed account the polyphenols present in different plant material to evidence the presence these compounds related to rizogenic potential of propagules. The minicuttings pattern were made with mature shoot from intact plant in forest (MA), sprout cultivated in greenhouse by semihidroponic system (MI), minicuttings previously planting with callus formation (MC) and minicuttings with roots (ME). In each sample were prepared brute extracts to extraction of total polyphenols (PET) with use of standard curve of the galic acid and reading in spectrophotometer. The mature plant presented the minor concentration of polyphenols while the other juveniles fonts presented higher concentration and increasing according to the induced phase in each propagule.

Key words: vassourão-branco, juvenility, phenols, rooting.

4.1 INTRODUÇÃO

Os compostos fenólicos constituem as mais difundidas classes de metabólitos secundários, conhecidos pela sua grande importância no sistema solo-plantas, relacionados ao estresse metabólico, parede celular e exsudados de raízes e sementes (CASTRO; FERREIRA; SILVA, 2004). Também atuam na defesa vegetal, como suportes mecânicos, atrativos de polinizadores ou dispersores de frutos, protegem contra radiação ultravioleta ou inibem o crescimento de plantas competidoras adjacentes (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Pesquisas sobre propagação vegetativa de diversas espécies resultam na ausência de enraizamento, sem aprofundar a investigação sobre os compostos responsáveis pela não formação de raízes adventícias e que, além disso, possam apresentar aplicações biológicas diversas. Conforme citado por Hartmann *et al.*, 2002, o processo de enraizamento adventício depende do balanço entre substâncias endógenas promotoras e inibidoras que, de modo geral, é muito variável entre as espécies, dentre as quais se encontram os compostos fenólicos.

Os polifenóis podem atuar no controle da formação de raízes pela inibição do sistema IAA-oxidase, prevenindo a destruição do ácido indolacético (IAA). Muitos p-difenóis, o-difenóis, cumarinas e polifenóis são relatados por inibir a oxidação do IAA (MAYNARD; BASSUK, 1988; HARTMANN *et al.*, 2002). Contudo, monofenóis e m-difenóis podem atuar inibindo o processo de enraizamento pelo estímulo ao sistema IAA-oxidase ou promoção da descarboxilação do IAA, enquanto alguns não apresentam efeito regulatório nos tecidos vegetais. Entre os promotores mais citados estão o floroglucinol, ácido ferúlico, ácido clorogênico e catecol (MAYNARD; BASSUK, 1988; HARTMANN *et al.*, 2002).

Druart Kevers e Gaspar (1982) verificaram que os níveis de fenóis totais sofreram diminuição de acordo com níveis crescentes de sombreamento, variando inversamente em relação à concentração de peroxidases durante o enraizamento de explantes de macieira (*Malus domestica* Borkh cv. Jonagold). Wendling (2002) pesquisou a relação entre fenóis e a capacidade rizogênica de miniestacas de *Eucalyptus grandis* sem obter resposta conclusiva sobre esta

hipótese. Entretanto, Tofanelli, Ono e Rodrigues (2004) testaram a aplicação do hidroxifenol 2,6-DHAP (2,6-di-hidroxiacetofenona) antes dos tratamentos com diferentes concentrações da auxina ácido indolbutírico em estacas semilenhosas de pessegueiro *Prunus persica* (L.) Batsch. cv. Okinawa e obtiveram acréscimo na porcentagem de enraizamento, número e comprimento de raízes nos propágulos que receberam os tratamentos prévios.

A realização de pesquisas que correlacionem os teores de compostos fenólicos e o enraizamento adventício pode suprir a carência desse tipo de pesquisa para espécies nativas brasileiras, aproveitáveis sob o ponto de vista silvicultural, mas que apresentam porcentagens baixas ou nulas de enraizamento. Nesse sentido, tais avaliações poderiam auxiliar o desenvolvimento de protocolos mais efetivos de propagação vegetativa, como se observa para espécies dos gêneros *Eucalyptus* e *Pinus*.

No caso da espécie lenhosa nativa *Piptocarpha angustifolia*, que tem sido apontada para projetos de recuperação de ecossistemas degradados (RED) e implantação em sistemas agrossilvipastoris, a estaquia com utilização de estacas semilenhosas não apresentou enraizamento adventício, mesmo sob aplicação de diferentes concentrações de ácido indolbutírico, para estacas coletadas nas quatro estações do ano (FERRIANI, 2006). A viabilidade e germinação de suas sementes é baixa (FERRIANI; BORTOLINI; NOGUEIRA, 2005), além da oxidação observada em todos os tipos de tecido que sofrem qualquer tipo de lesão, apontando a necessidade de pesquisas que possam evidenciar compostos relacionados à iniciação de raízes e sua potencial utilização. Nesse sentido, o objetivo dessa pesquisa foi verificar a presença de polifenóis em propágulos de *P. angustifolia* sob diferentes estágios fisiológicos, buscando relacionar sua presença ao potencial rizogênico do material.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Para realização das análises as amostras foram confeccionadas adotando-se como padrões miniestacas de *P. angustifolia* provenientes de quatro fontes de propágulos distintas coletadas nas datas dos experimentos: i)

ramos de planta matriz adulta com diâmetro a altura do peito (DAP) aproximado de 20cm, localizada no Bairro Imbuial, município de Colombo, estado do Paraná, identificadas como MA (APÊNDICE 3-A); ii) brotações oriundas de minicepas cultivadas sob sistema hidropônico, mantidas na estufa do Laboratório de Propagação de Plantas da *Embrapa Florestas*, identificadas como MI, iii) miniestacas com calos provenientes de instalação em substrato vermiculita média e casca de arroz carbonizada (1:1), realizada no mês de dezembro de 2008, identificadas como MC e iv) miniestacas enraizadas instaladas no mesmo período, identificadas como ME (APÊNDICE 3-B).

O material vegetal foi coletado e mantido em recipientes contendo água para evitar desidratação, sendo levado ao Laboratório de Microbiologia da *Embrapa Florestas*, onde foi lavado em água corrente para assepsia. Os materiais foram identificados como (A) para planta matriz adulta, (B) para miniestaca (representada pela brotação), (C) para miniestaca com calo e (D) para miniestaca enraizada. Cada tipo de propágulo foi seccionado em triplicata, de acordo com a massa inicial necessária ao processo de extração.

Pelo fato de não terem sido localizados trabalhos específicos quanto à verificação desses compostos em miniestacas, a metodologia foi adaptada de pesquisas desenvolvidas para outros materiais vegetais, como compatibilidade de porta-enxertos (RODRIGUES *et al.*, 2002) e resistência a patógenos (NOJOSA *et al.*, 2003).

4.2.1 Preparação do Extrato Bruto

O extrato bruto (EB) foi preparado segundo a metodologia utilizada por Nojosa *et al.* (2003). Para obtenção do extrato, os tecidos foram macerados em nitrogênio líquido, sendo retiradas 100mg de cada amostra e misturadas com solução extratora (1:40 v/v) constituída de metanol, clorofórmio e água desmineralizada (MCA, 12:5:3 v/v). Ao extrato bruto foram adicionadas 1ml de clorofórmio e 1,5ml de água desmineralizada; essa mistura foi agitada e centrifugada (10.000rpm por 30 minutos a 4°C) para separação de fases.

4.2.2 Determinação de Polifenóis Extratíveis Totais

A determinação de polifenóis extratíveis totais (PET) foi realizada segundo o procedimento operacional padrão (POP) da *Embrapa Florestas*, a partir da curva-padrão do ácido gálico (RUFINO, 2005). A metodologia consistiu na preparação das soluções de Folin-Ciocalteu (JENNINGS, 1981), carbonato de sódio anidro a 20% e solução de ácido gálico.

4.2.2.1 Solução de Folin-Ciocalteu (1:3)

Foi realizada a diluição 12,5ml do Reativo Folin Ciocalteu para 37,5 de água destilada, homogeneizada e transferida para frasco de vidro âmbar, sendo armazenado sob temperatura ambiente.

4.2.2.2 Solução de Carbonato de Sódio Anidro a 20%

Foram dissolvidas 20g de carbonato de sódio (Na_2CO_3) para cada 100ml de água destilada, aquecidas a 70-80°C e deixadas em repouso durante 12 horas. Após o descanso, filtradas e completadas para 500ml de água destilada em um balão volumétrico, homogeneizadas e transferidas para frasco de vidro.

4.2.2.3 Solução de Ácido Gálico

Foram dissolvidas 5mg de ácido gálico (peso molecular =170,12) em água destilada, transferida para 100ml em um balão volumétrico âmbar e homogeneizadas. A solução foi preparada apenas no dia da análise, para utilização imediata.

4.2.3 Curva-padrão do Ácido Gálico

A partir da solução inicial de 100ml de ácido gálico 50ug (S1), utilizando diluições sucessivas, foram preparadas as demais soluções variando de 0 a 40ug (S2 a S6). Retiradas 800 ul de S1 e completadas com água destilada para 1000ul em tubo de ensaio (S2) e assim sucessivamente até S6, ou seja, 1000ul de água destilada (branco), conforme a Tabela 5. Em seguida foi acrescentado 1ml do reagente de Folin-Ciocalteau (1:3), 2ml de carbonato de sódio a 20% e 2ml de água destilada (OBANDA; OWUOR, 1997). A amostra foi homogeneizada e deixada em repouso à temperatura ambiente e protegida da luz por 30 minutos.

TABELA 4 - SOLUÇÕES PARA CURVA-PADRÃO DE ÁCIDO GÁLICO PARA LEITURA DE POLIFENÓIS EXTRATÍVEIS TOTAIS (PET) EM ESPECTROFOTÔMETRO

| Ácido Gálico (μg) | Padrão (μl) | Água Destilada (μl) |
|--------------------------------|--------------------------|----------------------------------|
| S6 - 0 | 0 | 1000 |
| S5 - 10 | 200 | 800 |
| S4 - 20 | 400 | 600 |
| S3 - 30 | 600 | 400 |
| S2 - 40 | 400 | 200 |
| S1 - 50 | 1000 | 0 |

4.2.4 Determinação das Absorbâncias

Em ambiente escuro, as soluções de diferentes concentrações foram transferidas para as cubetas de cristal. As leituras em espectrofotômetro a 700nm, foram realizadas após 30 minutos, sendo zerado com a solução S6 (também denominada “branco”).

4.2.5 Curva-padrão

As concentrações do ácido gálico (μg) foram plotadas em planilha no eixo X *versus* as respectivas absorvâncias no eixo Y, sendo calculada a equação da reta.

4.2.6 Determinação dos Polifenóis Extratíveis Totais (PET)

As determinações foram realizadas a partir de três amostras obtidas de cada material vegetal. Em ambiente escuro foi preparada a solução contendo 1ml do reagente Folin-Ciocalteu (1:3), 2ml do carbonato de sódio (20%) e 2ml de água destilada, sendo homogeneizados em seguida. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (marca, modelo) a 700nm, realizadas 30 minutos após a adição dos reagentes (OBANDA; OWUOR, 1997). O branco correspondeu à solução contendo 1ml de água destilada acrescida dos reagentes já descritos.

4.2.7 Cálculo dos Polifenóis Extratíveis Totais (PET)

A partir dos valores de absorvância das amostras, do peso inicial do material vegetal e da equação da reta obtida, foram calculadas as concentrações específicas. Os cálculos para concentração de cada amostra foram realizados a partir da média obtida das três leituras e respectivos pesos, sendo submetidos à análise de variância e médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores referentes às absorvâncias obtidas para cada propágulo são expressos na Figura 2. Para os extratos obtidos de miniestacas com calos e enraizadas, representados por C e D, respectivamente, foram realizadas diluições com água destilada na proporção 3:4, uma vez que os valores obtidos para os extratos sem diluição extrapolavam a curva de concentração padrão do ácido gálico.

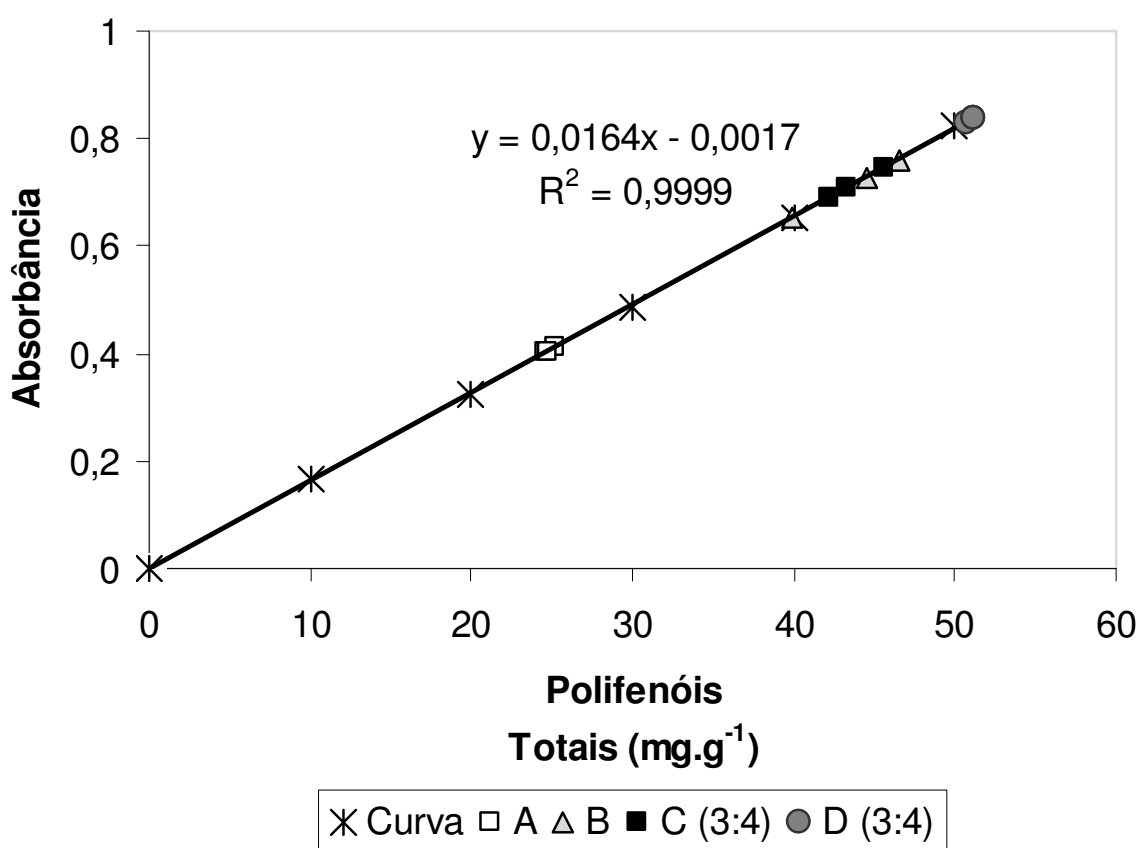


FIGURA 2 – CURVAS-PADRÃO OBTIDAS A PARTIR DAS CONCENTRAÇÕES DE POLIFENÓIS EXTRATÍVEIS TOTAIS EM PLANTA-MATRIZ ADULTA (A), BROTAÇÕES (B), MINIESTACAS COM CALOS (C) E MINIESTACAS ENRAIZADAS (D) DE *P. angustifolia*, Colombo, 2009.

A equação da reta obtida a partir das absorvâncias dos padrões foi utilizada para os cálculos da concentração de polifenóis extratíveis totais para cada tipo de propágulo avaliado. Os resultados foram ajustados segundo a quantidade de matéria seca das amostras, expressos na Tabela 5.

TABELA 5 - MÉDIAS DAS ABSORBÂNCIAS E CONCENTRAÇÕES DE POLIFENÓIS EXTRATÍVEIS TOTAIS EM DIFERENTES TIPOS DE PROPÁGULOS DE *P. angustifolia*, COLOMBO, PR, 2008.

| TIPO PROPÁGULO | MÉDIA ABSORBÂNCIAS | CONCENTRAÇÃO POLIFENÓIS TOTAIS EXTRATO (mg.L ⁻¹) | CONCENTRAÇÃO POLIFENÓIS TOTAIS MATÉRIA SECA (mg.g ⁻¹) |
|--------------------------------|--------------------|--|---|
| MA (Planta matriz adulta) | 0,406 | 24,8 | 1,62 B |
| MI (Miniestaca) | 0,714 | 43,6 | 2,84 A |
| MC (Miniestaca com calos) | 0,715 | 43,7 | 3,79 A |
| ME (Miniestaca enraizada) | 0,834 | 51,0 | 4,42 A |
| Coefficiente de variação (%) | 2,40 | | |
| Teste de Bartlett (χ^2) | 6,72 ^{ns} | | |

Médias seguidas da mesma letra maiúscula nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados das análises estatísticas (TABELA 5) revelaram que as concentrações de polifenóis totais variaram em função do estado fisiológico de cada propágulo avaliado, onde foi registrada a menor concentração de polifenóis totais para o material adulto (MA), representado pelo ramo de planta matriz intacta. Tais observações corroboram com as informações obtidas na bibliografia que apontam determinados materiais adultos como os de menor aptidão ao enraizamento adventício devido aos altos teores de lignina em sua composição (GESTO; VÁSQUEZ; VIEITZ, 1977; DRUART; KEVERS; GASPAR, 1982; TOFANELLI; ONO; RODRIGUES, 2004).

A comparação de médias da concentração de polifenóis totais em matéria seca para as quatro fontes de propágulos demonstrou que os valores obtidos para planta matriz adulta, brotações e miniestacas com calos são

estatisticamente semelhantes. Porém numericamente a planta matriz adulta (MA) apresentou o menor valor de concentração de polifenóis, o que pode ser justificado pela fase vegetativa em que se encontravam os ramos intactos estabelecidos em campo. Este fato pode ser relacionado ao alto grau de lignificação dos tecidos adultos encontrados nos ramos, onde a presença de determinados compostos fenólicos não se relaciona à indução radicial (MAYNARD; BASSUK, 1988; HARTMANN *et al.*, 2002; GOMIDE; COLODETTE, 2007).

Os demais materiais avaliados foram obtidos de propágulos rejuvenescidos, originados de brotações provenientes de plântulas mantidas sob sistema semi-hidropônico. Nas brotações (MI), definidas como um propágulo rejuvenescido removido da minicepa no momento da análise, e que não foi submetido ao processo de iniciação radicial, foi verificado um valor superior ao do material adulto. Nas demais amostras, representadas por miniestacas com calos (MC) e enraizadas (ME), mantidas em leito de enraizamento durante 60 dias, foi observado o aumento das concentrações de polifenóis totais de acordo com seu respectivo potencial rizogênico. Estes resultados concordam com os obtidos por Trobec *et al.* (2005), que verificou o aumento dos teores de polifenóis correlacionado à capacidade de indução radicial de estacas foliares de cerejeira.

A utilização de propágulos adultos da espécie (planta matriz adulta) serviu como comparativo para a verificação da existência de diferenças entre estes e os materiais rejuvenescidos que foram mantidos em condições controladas (estufa e sistema semi-hidropônico). Este efeito foi também verificado por Bauer, Johnston e Williams (1999) que avaliaram o potencial rizogênico de estacas provenientes de ramos adultos e jovens do arbusto ornamental *Persoonia virgata* R. Br. e verificaram a redução da concentração do composto inibidor no material juvenil enraizado e aumento de sua concentração em estacas que não apresentaram formação de raízes.

De maneira semelhante, em estacas semilenhosas de araçazeiro (*Pisidium cattleyanum* Sabine), as plantas intactas só apresentaram formação de raízes a partir da utilização da técnica de estiolamento, fazendo com que os teores de compostos inibidores fossem reduzidos (CASAGRANDE JR. *et al.*, 1999). Com relação a este efeito, Rodrigues *et al.* (2002) estudou a relação de

fenóis e enzimas peroxidase em porta-enxertos de pessegueiro (*Prunus* sp.) e relacionou o envolvimento de enzimas do grupo das peroxidases que se relaciona à lignificação da parede celular, utilizando os compostos fenólicos como substrato dessa reação.

Para a minicepa (MI), material oriundo de brotações apresentou valor superior em relação àquele proveniente da planta matriz adulta devido ao estado fisiologicamente mais juvenil e, portanto, mais propenso à indução. Esta variação nas respostas de enraizamento entre propágulos adultos e juvenis foi citada por diversos autores (ZANETTE, 1995; TOFANELLI, 1999; PALANISAMY; SUBRAMANIAN, 2001; HARTMANN *et al.*, 2002).

As miniestacas com calos (MC) e enraizadas (ME) apresentaram, respectivamente, os maiores valores de polifenóis totais, possivelmente relacionados aos níveis de co-fatores relacionados ao enraizamento, onde são incluídos os polifenóis. Estes resultados concordam com os valores obtidos por Trobec *et al.* (2005) que verificou a relação positiva entre esses compostos e a capacidade de formação de raízes em estacas de cerejeira.

A iniciação de raízes nas miniestacas de *P. angustifolia* foi favorecida por apresentarem menor grau de lignificação, fato também verificado por Druart, Kevers e Gaspar (1982) na propagação de macieira. O mesmo comportamento foi constatado por Rodrigues *et al.* (2002), no enraizamento de porta-enxertos de pessegueiro (*Prunus* sp.). Estes mesmos autores constataram que o aumento da concentração de peroxidases foi relacionado à lignificação da parede celular, reduzindo o teor de fenóis utilizado como substrato dessa reação, sugerindo que a relação inversa entre esses compostos pode ser relacionada à formação de raízes.

De maneira contrária, Wendling (2002) não constatou relação entre a variação de concentração de fenóis e a capacidade de iniciação radicial para miniestacas de *Eucalyptus grandis*, porém sugeriu a realização de estudos que possam caracterizar os diferentes tipos desses compostos e sua ação específica no processo de enraizamento adventício. Pelo fato de se tratar de uma pesquisa inédita para esta espécie, os ensaios preliminares realizados demonstraram a existência de variações de concentração em polifenóis totais, indicados como promotores do enraizamento adventício (KEVERS *et al.*, 1997). Pesquisas futuras poderão caracterizar esses compostos, seus efeitos e

relações com outros possíveis marcadores da aptidão rizogênica, como a variação das concentrações de peroxidase, por exemplo.

Além disso, outros experimentos poderão ser conduzidos para avaliar as variações das concentrações de polifenóis em diferentes períodos, como por exemplo, no ato da instalação das miniestacas no leito de enraizamento e em dias posteriores, com a finalidade de verificar-se o comportamento dessas substâncias ao longo do período de iniciação de raízes adventícias. Da mesma maneira, a identificação desses compostos poderá contribuir para o estabelecimento de protocolos que possam avaliar o potencial rizogênico de cada tipo de propágulo.

4.4 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos no presente trabalho foi possível concluir que os teores totais de polifenóis apresentaram teores mais elevados nos propágulos iniciados no processo de enraizamento adventício, quando comparados com material adulto.

Quanto às análises de compostos fenólicos, são sugeridos novos experimentos e análises cromatográficas para isolamento e identificação dos compostos verificados. Pesquisas posteriores poderão revelar componentes que permitam antecipar a capacidade de indução radicial de materiais adultos e juvenis, gerando economia de tempo e insumos, além de outras potencialidades relacionadas às atividades humanas (medicinal ou de repelência, entre outras) a fim de que se obtenham maiores detalhes sobre o aproveitamento ecológico racional da espécie.

REFERÊNCIAS

BAUER, L. M.; JOHNSTON, M.E.; WILLIAMS, R.R. Plant genotype, juvenility and mechanisms of inhibition of rooting *Perseonia virgata* R. Br. Cuttings. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 39, p. 1029-1034, 1999.

CASAGRANDE JR., J. G.; BIANCHI, V. J.; STRELOW, E. Z.; BACHARIN, M. A.; FACHINELLO, J. C. Influência do sombreamento sobre os teores de carboidratos e fenóis em estacas semilenhosas de araçazeiro, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 12, p. 2219-2223, 1999.

CASTRO, H. G; FERREIRA, F. A; SILVA, D. J. H. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: Metabólitos Secundários**. 2.a edição. Visconde do Rio Branco: [s.n.], 2004, 113p.

DRUART, P. H., KEVERS, C.L., GASPAR, T.H. *In vitro* promotion of root formation by apple shoots through darkness effect on endogenous phenols and peroxidases. **Zeitschrift für Pflanzenphysiologie**, Stuttgart, n.108, p.429-436, 1982.

FERRIANI, A. P.; BORTOLINI, M. F.; NOGUEIRA, A. C. **Comportamento germinativo de sementes de vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia* Dusén) sob diferentes temperaturas e substratos**. In: Congresso Brasileiro de sementes, Foz do Iguaçu, 2005. Informativo ABRATES, v. 15, n. 1-3, agosto, 2005.

FERRIANI, A. P. 100f. **Estaquia de vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia* Dusén) sob efeito do ácido indol butírico**. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

GESTO, M. D. V.; VÁSQUEZ, A; VIEITEZ, E. Rooting substances in water extracts of *Castanea sativa* and *Salix viminalis*, **Physiol. Plantarum**, v. 40, p. 265-268, 1977.

GOMIDE, J. L; COLODETTE, J. L. Qualidade da madeira pp. 27-54. In Borém. A. (Ed.) **Biotecnologia Florestal**, Viçosa: [s.n.], 2007. 387p.

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

JENNINGS, A. C. The determination of dihydroxy phenolic compounds in extracts of plant tissue. **Analytical Biochemistry**, v. 118, p. 396-398, 1981.

KEVERS, C; HAUSMAN, J. F; FAIVRE-RAMPANT, O; EVERS, D; GASPAR, T. H. Hormonal control of adventitious rooting: progress and questions. **Angewandte. Botanik.**, 71, p.71-79, 1997.

MAYNARD, B. K.; BASSUK, N. L. Etiolation and banding effects on adventitious rooting formation. In: DAVIS, T. D.; HAISSIG, B. E.; SANKHLA, N. **Adventitious root formation in cuttings**, Portland, Dioscorides Press, 1988, 315p.

NOJOSA, G. B.; REZENDE, M. L. V.; AGULAR, M. A.G.; BEZERRA, K. M. T.; ANHERT, D.E. Componentes fenólicos e enzimas oxidativas em clones de *Theobroma cacao*, **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 2, p. 148-154, 2003.

OBANDA, M.; OWUOR, P. O. Flavonol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicator of kenyan black teas. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v. 74, p. 209-215, 1997.

PALANISAMY, K.; SUBRAMANIAN, K. Vegetative propagation of mature teak trees (*Tectona grandis* L.). **Silvae Genetica**, Frankfurt, v.50, n. 5-6, p. 188-191, 2001.

RODRIGUES, A. C.; DINIZ, A. C.; FACHINELLO, J. C.; SILVA, J. B.; FARIA, J. L. C. Peroxidases e fenóis totais em tecidos de porta-enxertos de *Prunus* sp. nos períodos de crescimento vegetativo e dormência, **Ciência Rural**, v. 32, n. 4, p 559-564, 2002.

RUFINO, M. S. Determinação de polifenóis extratíveis totais. **Procedimento Operacional Padrão**, Embrapa, 2005, 5p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. São Paulo: Limed, 2004, 719p.

TOFANELLI, M. B. D. 87f. **Enraizamento de estacas lenhosas e semilenhosas de cultivares de pessegueiro em diferentes concentrações de ácido indolbutírico**. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Lavras. Lavras, 1999.

TOFANELLI, M. B. D.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. 2,6-dihidroxiacetofenona no enraizamento de estacas semilenhosas de pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26 n. 2, p. 366-368, 2004.

TROBEC, M.; STAMPAR, F.; VEBERIC, R.; OSTERC, G. Fluctuations of different endogenous phenolic compounds and cinnamic acid in the first days of the rooting process of cherry rootstock 'GiSela 5' leafy cuttings, **Journal of plant physiology**, v. 162, p. 589-597, 2005.

WENDLING, I.105f. **Rejuvenescimento de clones de *Eucalyptus grandis* por miniestaquia seriada e micropropagação.** Tese (Doutorado em Ciência Florestal). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2002.

ZANETTE, F. **Propagação da pereira (*Pirus comunis*) var. Garber por estaquia lenhosa.** Tese para o concurso de professor titular de Fitotecnia, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 1995.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da observação e experimentação utilizando *P. angustifolia* como objeto de estudo, foram possíveis diversas constatações que extrapolam as análises apresentadas neste trabalho.

Durante a observação da fenologia de plantas ao longo de três ciclos reprodutivos (anos de 2006 a 2008) verificou-se a irregularidade na produção de sementes nas plantas-matrizes observadas, ou seja, árvores com características morfométricas semelhantes não apresentaram período sazonal de frutificação, mesmo sob condições ambientais similares, o que constitui informação inédita a ser desenvolvida posteriormente.

Quando a germinação ocorre, as plântulas obtidas sofrem oxidação gradativa e posterior morte, atingindo níveis deletérios em torno de 98%. A baixa formação de mudas pela via seminal e perdas significativas provenientes da morte de plantas durante o período de adaptação ao sistema semi-hidropônico não permitiu que fossem realizados experimentos comparativos entre diferentes tipos de propágulos (miniestacas com diferentes comprimentos e com presença e ausência de folhas, por exemplo), composições de substratos ou uso de diferentes concentrações de reguladores vegetais.

Considerando os experimentos realizados até o momento da conclusão desta pesquisa, foi possível verificar que houve acréscimos significativos quanto ao processo de enraizamento pela ministaquia, uma vez que a estaquia de ramos semilenhosos realizada em diferentes épocas do ano sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico apresentou resultado de enraizamento nulo para todos os experimentos.

A ministaquia, de maneira contrária, tem demonstrado a possibilidade da produção de mudas, desde que sejam realizados ajustes quanto ao manejo da técnica, uma vez que houve adaptação gradativa das minicepas ao sistema utilizado, proporcionando a formação de propágulos (minicepas) com capacidade de enraizamento e posterior formação de mudas.

Há necessidade de novas pesquisas para aperfeiçoamento da técnica que possam comparar fontes juvenis de propágulos, emprego dos reguladores

vegetais, diferentes substratos, nutrição, temperatura e teor de umidade, além do desenvolvimento em campo.

Outra hipótese a ser testada é a de que novas brotações obtidas das minicepas já instaladas possam formar subcultivos fisiologicamente juvenis para obtenção de minicepas com maior capacidade de enraizamento em miniestquia ou em micropropagação. Nesse sentido, a manutenção da instalação de miniestacas a partir de brotações das minicepas deve ser considerada.

Foram realizados ensaios de micropropagação utilizando sementes, cultura de embriões, segmentos nodais e ápices caulinares, sendo esta última técnica a única que apresentou resultados. Os resultados obtidos após 60 dias da instalação, demonstraram a sobrevivência e multiplicação dos explantes (57,8%), a oxidação foi responsável pela maior porcentagem de morte dos explantes (26,5%), seguida da contaminação por fungos e bactérias (15,7%). A contaminação por fungos e bactérias apresentou porcentagem inferior à oxidação, sendo parcialmente contornada pelas técnicas assépticas utilizadas. Sugere-se o aperfeiçoamento da técnica quanto à assepsia e controle da oxidação, a fim de que os explantes possam ser multiplicados, gerando brotações necessárias às fases subseqüentes.

6 CONCLUSÃO GERAL

A miniestaquia demonstrou potencialidades para a sobrevivência, produção e capacidade de enraizamento da espécie no inverno e primavera, sendo o inverno a época de coleta que apresentou maior número e comprimento de raízes. O teste para avaliação de polifenóis em diferentes propágulos demonstrou que os materiais iniciados no processo adventício apresentaram maior concentração desses compostos.

APÊNDICES



APÊNDICE 1. A - PLANTA MATRIZ ADULTA DE *P. angustifolia*; B - RAMOS CONTENDO INFLORESCÊNCIAS; C - SEMENTES E D - PLÂNTULAS. COLOMBO, 2008.



APÊNDICE 2. A - MINIJARDIM CLONAL; B - DETALHE DAS MINICEPAS DE *P. angustifolia* COM FOLHAS OXIDADAS; C - INSTALAÇÃO DE MINIESTACAS DE *P. ANGUSTIFOLIA*; D - MINIESTACAS ENRAIZADAS, COLOMBO, 2008.



APÊNDICE 3. A - RAMO DE PLANTA MATRIZ ADULTA DE *P. angustifolia* UTILIZADO PARA ANÁLISE DE POLIFENÓIS TOTAIS; B - BROTAÇÃO DE *P. ANGUSTIFOLIA* PROVENIENTE DE MINICEPA, MINIESTACA COM CALOS E MINIESTACA ENRAIZADA, COLOMBO, 2009.

APÊNDICE 4 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA PORCENTAGENS DE MINIESTACAS DE *P. angustifolia* ENRAIZADAS, NÚMERO MÉDIO DE RAÍZES E COMPRIMENTO MÉDIO DAS TRÊS MAIORES RAÍZES, COLETADAS NA PRIMAVERA DE 2007, OUTONO E INVERNO DE 2008, CURITIBA, PR, 2008.

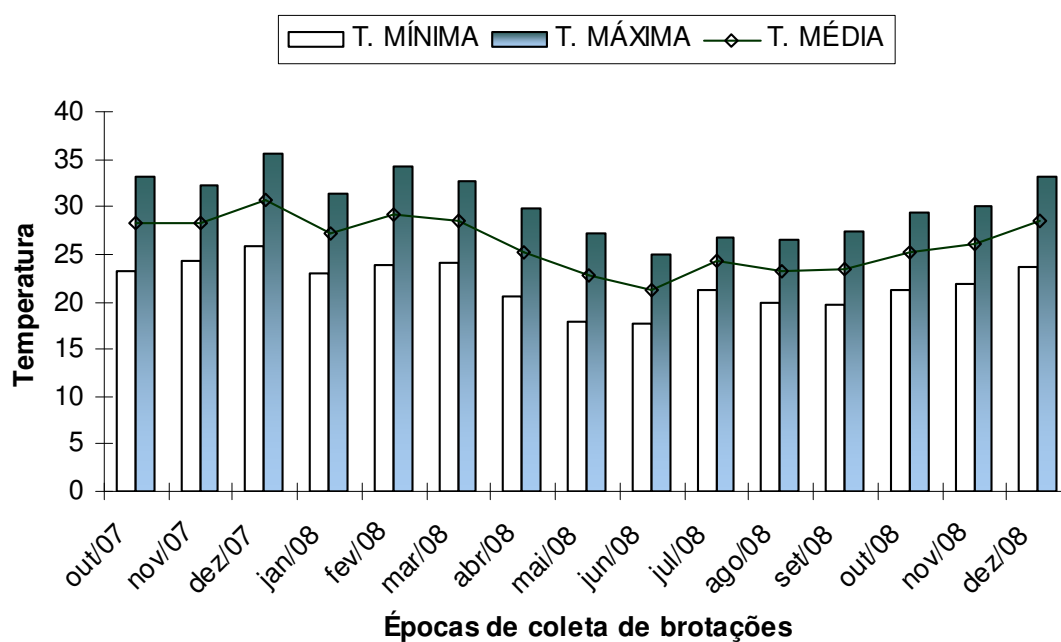
| FONTES DE VARIÇÃO | GL. | QUADRADO MÉDIO | | |
|--------------------------------|-----|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| | | MINIESTACAS ENRAIZADAS (%) | NÚMERO MÉDIO DE RAÍZES (1) | COMPRIMENTO MÉDIO RAÍZES (cm) |
| Tratamentos | 2 | 1.008,333 ^{ns} | 30,773 ^{**} | 60,468 ^{**} |
| Erro | 9 | 258,333 | 0,165 | 0,552 |
| Total | 11 | | | |
| Coeficiente de variação (%) | | 44,85 | 11,74 | 14,01 |
| Teste de Bartlett (χ^2) | | 1,54 ^{ns} | 1,75 ^{ns} | 1,34 ^{ns} |

^{ns} não significativo, ^{**} significativo ao nível de 1%

APÊNDICE 5 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA PORCENTAGENS DE MINIESTACAS DE *P. angustifolia* COM CALOS, VIVAS E MORTAS, COLETADAS NA PRIMAVERA DE 2007, OUTONO E INVERNO DE 2008, CURITIBA, PR, 2008.

| FONTES DE VARIÇÃO | GL. | QUADRADO MÉDIO | | |
|--------------------------------|-----|---------------------------|-----------------------|------------------------|
| | | MINIESTACAS COM CALOS (%) | MINIESTACAS VIVAS (%) | MINIESTACAS MORTAS (%) |
| Tratamentos | 2 | 1.264,583 ^{**} | 727,083 ^{**} | 975,000 ^{**} |
| Erro | 9 | 49,306 | 40,972 | 158,333 |
| Total | 11 | | | |
| Coeficiente de variação (%) | | 41,10 | 66,79 | 33,55 |
| Teste de Bartlett (χ^2) | | 1,40 ^{ns} | 1,28 ^{ns} | 1,18 ^{ns} |

^{ns} não significativo, ^{**} significativo ao nível de 1%.



APÊNDICE 6 - TEMPERATURAS MÍNIMAS, MÁXIMAS E MÉDIAS REGISTRADAS NA ESTUFA DO LABORATÓRIO DE PROPAGAÇÃO DE PLANTAS DA EMBRAPA FLORESTAS, NO PERÍODO DE OUTUBRO DE 2007 A DEZEMBRO DE 2008, COLOMBO, 2008.