

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DE FLORESTAS TROPICAIS

**Propagação vegetativa por estaquia utilizando rebrota de cepas
de árvores adultas de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke)**

CAMILLA MARTINS BOTELHO

Manaus, Amazonas
Junho de 2016

CAMILLA MARTINS BOTELHO

**Propagação vegetativa por estaquia utilizando rebrota de cepas
de árvores adultas de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke)**

Orientador: Dr. Paulo de Tarso Barbosa Sampaio

Coorientadora: Dr.^a Regina Caetano Quisen

Dissertação para a obtenção do título de Mestre em Ciências de Florestas Tropicais, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA/MCTI), área de concentração: silvicultura tropical.

Manaus, Amazonas
Junho de 2016

“Cada fracasso ensina ao homem
algo que ele precisava aprender”.

(Charles Dickens, em Oliver Twist)

“A menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar,
não seremos capazes de resolver os problemas causados
pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”.

(Albert Einstein)

Resumo

O pau-rosa, *Aniba rosaeodora*, é uma espécie nativa da Amazônia de interesse econômico que está ameaçada de extinção devido à intensa exploração extrativista. A alternativa para agregar exploração e conservação é o plantio *ex situ*, utilizando a estaquia para produção de mudas. Este trabalho estudou a interferência do tipo de substrato, concentrações da auxina em pó e tipo de estaca no enraizamento da rebrota de cepa de pau-rosa, bem como descrever a formação da raiz a nível anatômico. Para isso, três experimentos foram instalados utilizando rebrotos da decepa de árvores com 11 anos. No primeiro experimento (E1), testou-se quatro concentrações de ácido indolbutírico (AIB) via talco (0,0; 1,5; 3,0; 6,0 g kg⁻¹) e três tipos de substrato (areia, vermiculita e areia+vermiculita [1:1]) em delineamento de blocos casualizados, fatorial 3x4, contendo quatro blocos e 12 tratamentos com 10 estacas cada. No segundo (E2), testou-se o tipo de estaca: propágulo apical, intermediário e basal do ramo do rebroto, com 20 estacas cada; e o rebroto propriamente dito, com 12 estacas. O delineamento foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e quatro repetições. Análises de carboidratos solúveis e amido foram realizadas para cada tratamento com amostras retiradas no momento da instalação. O terceiro (E3) foi montado para a amostragem de diferentes tempos de enraizamento da análise histológica. No E1, após 150 dias, foi avaliado sobrevivência (%), enraizamento (%), número de raízes primárias e comprimento da maior raiz por estaca (cm). No E2, após 120 dias, além dos já citados, avaliou ainda o número de brotos, comprimento do maior broto (cm) e a presença de calos (%). A vermiculita foi o substrato com os maiores valores para todas as variáveis, diferenciando dos demais quanto à sobrevivência (83,8%) e da areia, quanto ao enraizamento (16,9%). A concentração de 3,0 g kg⁻¹ AIB foi melhor para o enraizamento (16,7%), sendo superior e diferente estatisticamente do controle. Não houve interação entre substrato e AIB. Dentre os tipos de estaca, o rebroto foi superior para a maioria das variáveis, diferindo significativamente das demais apenas quanto à emissão de brotos (47,9%) e calos (14,6%). Também foi maior quanto ao teor de amido (54,4 mg g⁻¹), que correlacionou positivamente com a emissão de brotos. A análise histológica mostrou um anel de esclerênquima contínuo que pode ser uma barreira mecânica ao surgimento da raiz do parênquima formado no xilema devido à atividade do câmbio vascular.

Palavras chave: substrato; ácido indolbutírico; posição de coleta; rizogênese; carboidratos.

Abstract

Vegetative propagation by cuttings using regrowth of strains rosewood grown trees

(*Aniba rosaeodora* Ducke)

The rosewood, *Aniba rosaeodora*, is an Amazonian native species of economic interest that is threatened with extinction due to intensive extractive exploitation. The alternative to aggregate exploitation and conservation of this specie is planting ex situ using cuttings to produce seedlings. This study aimed to evaluate the interference of the type of substrate, auxin concentrations in dust and type of stake in rooting regrowth cuttings of rosewood strain and describe the anatomical formation of root. Three experiments were conducted using regrowth coppicing trees 11 years old. In the first (E1), we tested four concentrations (0.0 , 1.5, 3.0 and 6.0 g kg⁻¹) of powder indolebutyric acid (IBA) and three types of substrate (sand, vermiculite and sand+vermiculite 1:1) mounted in a randomized block design, factorial 3x4, with four blocks and 12 treatments with 10 cuttings each. In the second (E2), we tested the cuttings propagules of apical, intermediate and basal rebroto branch, with 20 cuttings each; and rebroto itself, with 12 stakes. The design was completely randomized, with four treatments and four replications. Soluble carbohydrates and starch analyzes were made for each position with samples taken at the time of installation. The third (E3), was for sampling of different times of rooting for histological analysis. In E1, after 150 days, survival was evaluated (%), roots (%), root number and length of roots per cutting (cm). In E2, after 120 days, besides the already mentioned also evaluated the number of shoots, the largest sprout length (cm) and the presence of callus (%). Vermiculite was the substrate with the highest and different values for all variables in the survival and only of sand in the rooting. IBA was significant only for rooting, with 3.0 g kg⁻¹ being greater than and different from the control. There was no interaction between substrate and IBA. Among the different propagules cuttings, the bud had the highest values for all variables except survival, differing from the others only as the issue shoots and calluses. It was also higher on the starch content differing from the basal position. The soluble carbohydrates had no significant difference. Histological analysis showed that the root comes up from the new parenchyma in the xylem formed due to activity of the vascular cambium.

Keywords: substrate; indolebutyric acid; collection position; histology; carbohydrates.

Sumário

Resumo	iv
Abstract.....	v
1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
2.1. Caracterização do pau-rosa.....	11
O interesse pela espécie.....	13
2.2. A propagação vegetativa pelo método da estaquia.....	16
Fatores que influenciam o enraizamento	17
A propagação vegetativa no pau-rosa.....	21
3. OBJETIVO.....	23
4. MATERIAL E MÉTODOS	23
Estabelecimento e condução dos experimentos.....	23
Análise estatística	27
Determinação do teor de carboidratos	27
Análise histológica	28
5. RESULTADOS	29
Análise histológica	32
6. DISCUSSÃO.....	35
7. CONCLUSÃO	41
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
APÊNDICE A – Quadros resumo das análises de variância (ANOVA).....	48
APÊNDICE B – Boxplot das variáveis respostas para AIB e substrato	49
APÊNDICE C – Boxplot das variáveis respostas para tipo de estaca.....	50
APÊNDICE D – Gráficos de correlação de Pearson (5% significância)	51

Lista de figuras

Figura 1: Árvore do pau-rosa (à esquerda) e o detalhe da coloração da casca (direita).	11
Figura 2: Os frutos verdes e maduros e as sementes do pau-rosa. Fonte: Sampaio <i>et al.</i> , 2003.	12
Figura 3: Distribuição atual do pau-rosa no Brasil. Fonte: CNCFlora, 2014.	13
Figura 1: Ilustração do propágulo coletado e estaca cortada.	24
Figura 2: Representação da coleta e confecção de propágulos: A - das porções basal, intermediário e apical do ramo do rebroto; B - propágulos do rebroto, também cortado em porções que foram misturadas para compor a parcela.	25
Figura 3: Ambientes de enraizamento: B - viveiro em Maués e C - casa de vegetação em Manaus.	26
Figura 4: Registros de temperatura e umidade relativa do ar (U.R.), máximas e mínimas, registradas de no viveiro maio a novembro de 2015, município de Maués, Estado do Amazonas.	26
Figura 5: Amostra da base da estaca do pau-rosa para análise histologia, seccionada em três subamostras, com uma destas seccionada longitudinalmente ao meio.	29
Figura 6: Porcentagem média de estacas enraizadas na areia (A), vermiculita (V) e areia + vermiculita (AV) em função da concentração do AIB em pó e os respectivos pontos médios de dispersão.	31
Figura 7: Boxploto das variáveis do experimento 1 em função do substrato e da concentração de AIB.	49
Figura 8: Boxplot das variáveis do experimento 2 em função do tipo de estaca apical (A), intermediária (I), basal (B) e direto do broto.	50
Figura 9: Correlação das estacas: A – Porcentagem de estacas com raiz/com calo em relação a estacas com broto; B – Porcentagem de estacas com raiz em relação a estacas com calo; C e D – Porcentagem de estacas vivas, com broto e com raiz em relação ao teor de carboidratos solúveis e de amido, respectivamente. As retas representa correlação significativa para a variável.	52

1. INTRODUÇÃO

A *Aniba rosaeodora* Ducke (pau-rosa), árvore típica da Floresta Amazônica, é encontrada no Brasil nos estados do Pará, Amazonas e Amapá. Tornou-se conhecida por ter um óleo de odor forte e perfumado devido à presença do álcool linalol, extraído da destilação do seu tronco principalmente (Sampaio *et al.*, 2003). Explorada desde a década de 1920 e de forma indiscriminada para alimentar a indústria de perfumaria, a regeneração natural não acompanhou o ritmo da derrubada das árvores, resultando no declínio das populações naturais do Estado do Pará e em grande parte do Amazonas (Homma, 2005). Atualmente sua ocorrência natural está restrita a áreas distantes e de difícil acesso (Homma, 2005), sendo rara a ocorrência de árvores de grande porte (Leite *et al.*, 1999). Como consequência dessa realidade, a espécie faz parte de listas internacionais de espécies ameaçadas (CITES, 2010; IUCN, 2014).

A demanda comercial pelo óleo linalol é contínua, o que gera a necessidade de alternativas de exploração econômica que viabilizem e conciliem os interesses comerciais à conservação da espécie. Neste sentido, os plantios comerciais de pau-rosa, nos diversos modelos de exploração já propostos, apresentam-se como uma solução viável que ainda requer o domínio de tecnologias disponíveis, principalmente no que se refere à produção de mudas.

A obtenção de sementes em quantidades suficientes para produzir mudas e estabelecer plantios enfrenta algumas dificuldades tais como a existência de poucos remanescentes naturais (Leite *et al.*, 1999), a variação fenológica da espécie (Sampaio *et al.*, 2003), a irregularidade em quantidade e periodicidade na produção de frutos, o período prolongado de maturação (Sampaio *et al.*, 2003; Spironello *et al.*, 2004) e a predação de frutos/sementes por aves e insetos (Spironello *et al.*, 2004). Dificultando ainda mais a produção de mudas seminal, soma-se o fato desta espécie possuir sementes recalcitrantes, ou seja, não toleram armazenamento, além de possuir um tegumento que causa certa resistência física a germinação (Sampaio *et al.*, 2003) e um percentual de germinação considerado bastante variável, de 39 a 91% (Ohashi e Rosa, 2004).

Assim como para a maioria das espécies florestais tropicais, os conhecimentos de técnicas de produção de mudas alternativas ao método via seminal são insuficientes para a implementação do processo produtivo, além de limitar os trabalhos de melhoramento genético com estas culturas. Dentre estas técnicas cita-se a propagação assexuada via estaquia, método no qual ocorre a indução do enraizamento adventício em segmentos

destacados da planta-mãe que, uma vez submetidos a condições favoráveis, originam uma muda clonal (Hartmann *et al.*, 2011).

A estaquia é uma técnica amplamente empregada em espécies de valor comercial que proporciona em um curto espaço de tempo, a produção de grande quantidade de mudas de qualidade, sendo que a eficiência do processo depende da facilidade de enraizamento de cada espécie, da qualidade do sistema radicular formado e do desenvolvimento posterior da planta (Oliveira *et al.*, 2001). Este é um processo possível devido ao princípio da totipotência celular, onde as células somáticas adquirem propriedades metabólicas, estruturais e funcionais distintas daquelas de suas células progenitores e assumem atividades meristemáticas mediante a desdiferenciação (pontos meristemáticos de crescimento) e subsequente diferenciação celular em primórdios radiculares e desenvolvimento e emergência das novas raízes (Alfenas *et al.*, 2009; Hartmann *et al.*, 2011).

Um dos grandes desafios na estaquia de plantas lenhosas é a obtenção da juvenilidade no propágulo vegetativo utilizado, visando maximizar a totipotência das células, e favorecendo assim o enraizamento adventício (Wendling e Xavier, 2001). As árvores possuem um gradiente de juvenilidade ao longo do tronco que, quanto mais próximo do centro onde aconteceram as primeiras divisões celulares, maior as características juvenis das células (Hartmann *et al.*, 2011). Segundo diversos autores, esse gradiente e/ou as técnicas que promovam o rejuvenescimento, ou seja, o retorno do material vegetal da fase madura para a juvenil, tal como a indução à emissão de novos brotos, tem influenciado positivamente no sucesso do enraizamento de algumas espécies (Bitencourt *et al.*, 2009; Ky-Dembele *et al.*, 2011; Melo *et al.*, 2012). De acordo com Wendling e Xavier (2001), o uso de propágulos com maior juvenilidade promove maior percentual, velocidade e qualidade de enraizamento, resultando em melhor qualidade das mudas.

Além da juvenilidade, o grau de lignificação e as diferenças nutricionais e fisiológicas também estão ligados à posição de coleta da estaca. Estacas apicais tendem a ser mais herbáceas, desidratar mais facilmente, possuir poucas reservas, mas possuem células meristemáticas ativas, ou seja, que já possuem a capacidade de divisão celular (Hartmann *et al.*, 2011; Xavier *et al.* 2013). Já as basais, geralmente são mais lignificadas, podem possuir um anel de esclerênquima já formado, mas tendem a possuir mais reservas,

como os carboidratos que são fontes de energia e carbono, além de um material genético mais novo (Negrelle e Doni, 2001; Hartmann *et al.*, 2011; Xavier *et al.* 2013).

A aplicação exógena de reguladores de crescimento, tal como as auxinas, são essenciais para possibilitar e acelerar a formação de raízes de estacas de diversas espécies. Sintetizado naturalmente nas regiões de crescimento ativo, zonas meristemáticas como gemas e folhas jovens principalmente, e translocado para as partes basais, esse hormônio, além de estar envolvido em diversas atividades fisiológicas, promove a indução do processo de enraizamento (Hartmann *et al.*, 2011). Em alguns casos a concentração endógena de auxinas não é suficiente, sendo necessária a aplicação exógena, podendo o efeito ser diferenciado quando aplicada no estado líquido ou em pó (Salvador *et al.*, 2014).

Segundo Sampaio e Costa (2010), Menezes (2006) e Sampaio *et al.* (1989), a propagação de estacas e mini-estacas de material juvenil de pau-rosa independem do uso de reguladores de crescimento, no entanto, a sua presença pode aumentar a porcentagem de sobrevivência, o número de raízes formadas e o comprimento médio destas raízes, fatores que estão diretamente ligados com o desenvolvimento da muda tanto no viveiro quanto no campo.

Os fatores externos (temperatura e umidade) são responsáveis por propiciar as condições favoráveis ao processo de rizogênese, uma vez que ainda não existe raiz para absorver água do substrato, estes são primordiais para controlar a transpiração das estacas e evitar a desidratação do propágulo (Stuepp *et al.*, 2015). O substrato é crucial para o desenvolvimento das raízes, visto que possui a função de manter as condições ideais na base da estaca para o desenvolvimento e crescimento da raiz, permitir boa aeração, drenagem, umidade e manter uma temperatura propícia para a multiplicação celular e reações bioquímicas (Mendonça *et al.*, 2010).

A estaquia na *A. rosaeodora* é possível, principalmente utilizando propágulos juvenis (Sampaio *et al.*, 1989; Menezes, 2006) provenientes da atividade de exploração desta cultura, onde são realizados corte de árvores ou a poda intensa dos galhos, resultando na formação de rebrotos nas cepas e nos ramos (Sampaio *et al.*, 2007; Ohashi *et al.*, 2004). No entanto, os resultados obtidos até o momento vêm demonstrando a necessidade de estudos mais detalhados sobre os fatores externos e internos que interferem no enraizamento, e assim poder contribuir para compor um método de propagação vegetativa eficiente a nível comercial.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Caracterização do pau-rosa

O pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke), pertencente a família Lauraceae, possui duas sinonímias: *Aniba rosaeodora* var. *amazonica* Ducke e *Aniba duckei* Kostermans (Sampaio *et al.*, 2003; Ohashi e Rosa, 2004). A árvore pode alcançar 30 m de altura, ocupando o dossel intermediário ou superior da floresta, e chegar a 2 m de diâmetro (Ducke, 1938; Sampaio *et al.*, 2003; Ohashi e Rosa, 2004).

O tronco é reto e cilíndrico, de casca pardo-amarelada ou avermelhada que se desprende facilmente em grandes placas (Figura 1). O fuste se ramifica no ápice formando uma copa pequena e estreita, ou ovalada. É uma espécie perenifólia com folhas alternas, coriácea, de superfície superior glabra e inferior levemente pubescente (Ducke, 1938; Sampaio *et al.*, 2003; Ohashi e Rosa, 2004).



Figura 1: Árvore do pau-rosa (à esquerda) e o detalhe da coloração da casca (direita).

A fenologia reprodutiva é irregular e varia conforme a localização geográfica (Leite *et al.*, 1999; Sampaio *et al.*, 2003; Ohashi e Rosa, 2004). Para a região de Manaus, a floração quando presente ocorre de Outubro a Março e a frutificação, que possui alta de Janeiro a Agosto, se estende por todo ano (Magalhães e Alencar, 1979).

As flores são diminutas hermafroditas em inflorescência. Para evitar a autofecundação, a reprodução ocorre por fecundação cruzada com dicogamia sincronizada. Como resultado se tem um fruto do tipo baga inserido em uma cúpula e uma semente

ovoide (Figura 2) (Ducke, 1938; Sampaio *et al.*, 2003; Ohashi e Rosa, 2004; Spironello *et al.*, 2004).



Figura 2: Os frutos verdes e maduros e as sementes do pau-rosa. Fonte: Sampaio *et al.*, 2003.

Ao amadurecerem os frutos adquirem uma coloração roxa-escura, desprendem-se da cúpula e caem. No chão, ficam ainda mais susceptíveis a predadores, que também os procuram quando ainda na árvore (Sampaio *et al.*, 2003; Spironello *et al.*, 2004).

As sementes são recalcitrantes sem dormência. Possuem resistência física a germinação provocada por um tegumento delgado, liso e opaco que as envolvem (Sampaio *et al.*, 2003).

A *A. rosaeodora* pode ser encontrada na região amazônica do Brasil, Guiana Francesa, Suriname, Guiana, Venezuela, Peru, Colômbia e Equador. No Brasil ocorre nos estados do Amapá, Amazonas e Pará, com a maior concentração na Amazônia Ocidental (Ducke, 1938; Sudam, 1972; Leite *et al.*, 1999). Habita a floresta de terra firme e a capinarana, sobre latossolos amarelos e vermelhos, mas também solos arenosos (Ohashi e Rosa, 2004; Souza e Lorenzi, 2005).

A distribuição é irregular com agrupamentos de 5 a 8 árvores, que ocorrem de 50 a 100 m de distância entre si e de 300 a 400 m entre grupos (Souza e Lorenzi, 2005). Carvalho (1983), estudando a regeneração natural da espécie na Floresta Nacional do Tapajós, observou a distribuição irregular com o agrupamento ocorrendo entre indivíduos superiores a 3 m de altura. Já nas plantas menores, a distribuição encontrada foi aleatória com tendência ao agrupamento.

Em decorrência da intensa exploração, o pau-rosa passou a ter uma distribuição isolada ou em agrupamentos muito distantes uns dos outros, restritos mais à porção ocidental da Amazônia e a unidades de conservação. Apresenta-se como espécie rara, sendo difícil encontrar árvores de grande porte (Leite *et al.*, 1999).

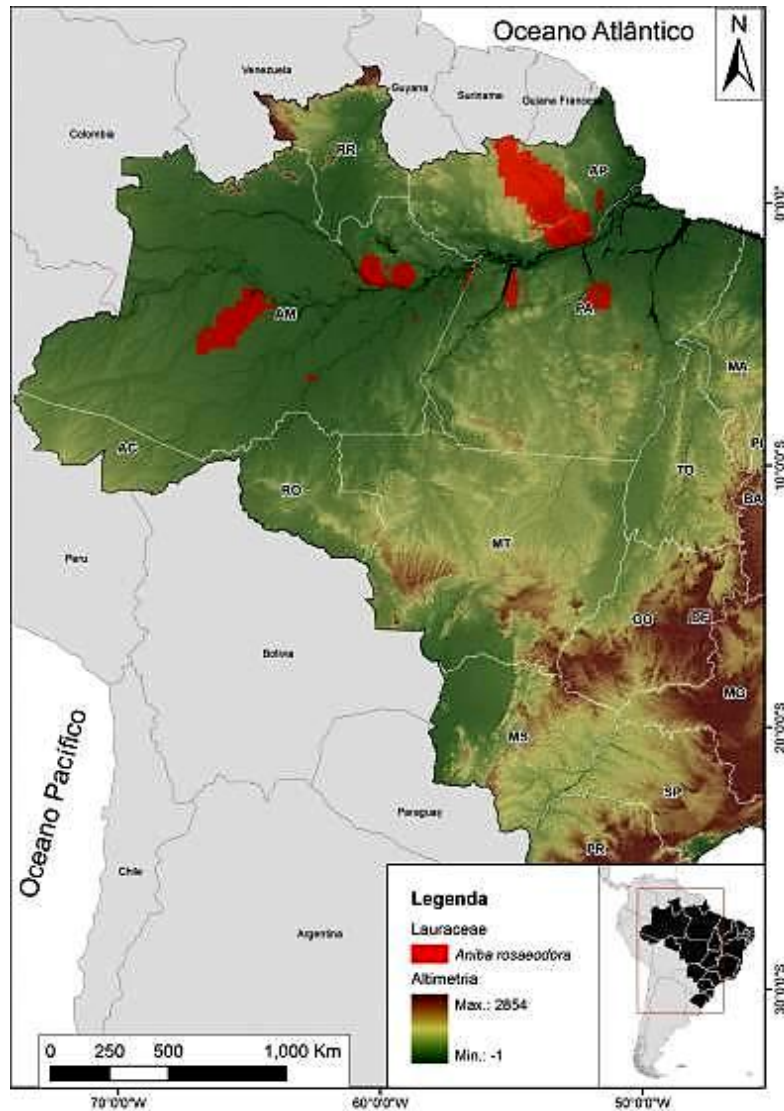


Figura 3: Distribuição atual do pau-rosa no Brasil. Fonte: CNCFlora, 2014.

O interesse pela espécie

O pau-rosa vem sendo explorado na Amazônia brasileira desde 1926, período esse em que a Guiana Francesa dominava o mercado mundial e começava a sentir o esgotamento da espécie (Homma, 2005). O interesse está no álcool linalol, contido no óleo essencial extraído da árvore, usado principalmente na indústria de perfumaria como fixador

de perfumes (Sampaio *et al.*, 2003; Ohashi e Rosa, 2004). O auge da exploração no Brasil foi na década de 50, onde se tem registro da exportação máxima de 444 t no ano de 1951 e extração máxima de 599 t de óleo em 1955 (Homma, 2005).

O óleo essencial é obtido da destilação da biomassa da árvore, podendo ser extraído de qualquer parte da planta (Ohashi e Rosa, 2004), porém tradicionalmente a madeira é a mais utilizada, apesar de render menos. São 1,0% a 2,3% de rendimento de óleo nas folhas e 0,9% a 1,6% nos galhos finos comparados com 1,4% de rendimento no tronco (Souza *et al.*, 2007). Leite *et al.* (2001) afirmam que são necessárias 11 árvores de 1 m de diâmetro cada para produzir um tambor de 185 kg de essência.

Essa exploração predatória indiscriminada, com a derrubada de indivíduos jovens e adultos, limitou os remanescentes da espécie a áreas afastadas das margens dos rios, ficando difícil o acesso para os exploradores (SUDAM, 1972; Leite *et al.*, 1999). Tal situação levou, em 1992, a inclusão da espécie na Lista Nacional de Espécies Ameaçadas (IBAMA, 1992). Alguns anos depois, foi incluída na Lista Vermelha da IUCN (União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais), na categoria de espécie ameaçada (IUCN, 2014). Mais recentemente, a espécie entrou no Anexo II da lista do CITES (Comércio Internacional de Espécie da Flora e Fauna Selvagens Ameaçadas de Extinção), passando a ter restrições globais e monitoramento dos processos de exportação e importação, nos padrões internacionais de sustentabilidade, de partes da espécie e produtos derivados (CITES, 2010).

A partir da década de 60, houve a queda da exploração da espécie, influenciada principalmente pelo aumento do custo da exploração, devido às dificuldades de encontrar e transportar as árvores, a concorrência no mercado com compostos alternativos natural e sintético e a inexistência de uma política florestal determinante para o setor (Homma, 2005). Segundo o mesmo autor, o crescimento da exploração do pau-rosa é limitado pela dependência dos estoques naturais.

Tendo em vista a demanda pela espécie e a percepção do seu esgotamento e na tentativa de manter a atividade econômica, já na década de 30 o governo tentou obrigar os extratores a reporem com muda cada árvore derrubada, mas não obteve sucesso (Homma, 2005). Anos depois, na década de 90, tentou incentivar o plantio racional (IBAMA, 1992). Entretanto tais atitudes não surtiram efeitos animadores devido ao desestímulo pelo qual o setor passava e à falta de conhecimento da ecologia e silvicultura do pau-rosa. Dos plantios

exigidos, os que se realizaram foram com a obtenção de mudas da regeneração natural (Homma, 2005).

Conscientizados quanto à necessidade de conservar a espécie para garantir matéria prima e incentivados pelo crescimento da consciência ambiental dos consumidores, os exploradores passaram a se interessar em domesticá-la e manejá-la de forma a obter o óleo sem efetuar o corte raso (Leite *et al.*, 2001). Surgiu então à necessidade de propagar o pau-rosa, seja por via sexuada ou assexuada, para atender a demanda por mudas para os plantios (Jardim *et al.*, 2010).

No entanto, apesar dos avanços no conhecimento sobre a ecologia da planta, pouco se sabe sobre o planejamento e o manejo adequado para plantios comerciais. O primeiro desafio é a produção de mudas, já apontada por Magalhães e Alencar em 1979 ao mencionarem as dificuldades de se obter sementes suficientes e a necessidade de meios alternativos à propagação.

As dificuldades de obtenção das sementes se iniciam com os poucos remanescentes naturais da *A. rosaeodora* (Leite *et al.*, 1999). A alta predação dos frutos e a frutificação acíclica e irregular (Sampaio *et al.*, 2003; Spironello *et al.*, 2004) soma-se a intolerância das sementes ao armazenamento (recalcitrantes) e a presença de um tegumento que causa resistência física a germinação (Sampaio *et al.*, 2003). Além do mais, essa espécie possui uma porcentagem de germinação que varia de 39% a 91% (Ohashi e Rosa, 2004). Mesmo assim, a produção de mudas seminais é a dominante atualmente, consistindo na coleta dos frutos no chão e na árvore, retirada do tegumento das sementes deixando-as de molho na água e semeadura em sementeira e posterior repicagem.

Mudas seminais possuem o tempo de desenvolvimento variado umas das outras, que vem se acumulando desde a germinação, e resulta em mudas com crescimento heterogêneo, o que dificulta o manejo no viveiro e o tempo de expedição para o campo. Tais barreiras destacam a necessidade de se investir em propagação vegetativa, obtendo-se assim mudas com crescimento mais homogêneo, seleção genética mais eficiente e em escala comercial. Além de ser uma forma de preservar a espécie, uma vez que pode ser um meio fácil, barato e eficaz para realizar estoque de plantio com atributos desejáveis à domesticação (Baul *et al.*, 2011) e não necessitar mais da extração natural.

2.2. A propagação vegetativa pelo método da estaquia

A propagação vegetativa surge com a necessidade de melhorar a produtividade através da clonagem de indivíduos com características desejáveis (Hartmann *et al.*, 2011). Por permitir multiplicar um genótipo sem perder os atributos considerados superiores, é uma ferramenta utilizada principalmente em programas de melhoramento genético. Dentre os meios de propagação a estaquia se destaca pela viabilidade econômica em se estabelecer plantios clonais em curto tempo (Paiva e Gomes, 2005).

A propagação vegetativa por estaquia é a técnica na qual se promove o enraizamento adventício e o desenvolvimento aéreo de segmentos destacados da planta mãe, denominados estacas, por meio do fornecimento de condições favoráveis (Hartmann *et al.*, 2011). As estacas podem ser do ramo, folha ou raiz da planta matriz e irão gerar indivíduos com constituição genética iguais ao que lhes deram origem, os chamados clones (Paiva e Gomes, 2005).

Essa técnica é comumente utilizada para a produção de mudas de eucalipto em larga escala no Brasil, mas também pode ser desenvolvida para a propagação de lenhosas nativas (Leandro e Yuyama, 2008; Silva *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2011; Hernández *et al.*, 2012, 2013; Melo *et al.*, 2012). Comparando a variedade existente de espécies nativas comerciais, pode-se dizer que poucos são os estudos sobre estaquia em espécies florestais nativas e quase nada se sabe para o seu emprego a nível comercial (Dias *et al.*, 2012), principalmente se tratando de nativas da Amazônia.

O principal limitador para a estaquia em produção comercial é a capacidade genética e fisiológica das espécies em promover o enraizamento adventício e essa baixa capacidade está presente em muitas das espécies de interesse comercial (Hartmann *et al.*, 2011). Técnicas que promovam o resgate da juvenilidade do material adulto têm sido usadas, como anelamento do caule, uso do fogo, podas de galhos e corte raso, que estimulam a brotação (Alfenas *et al.*, 2009). No entanto, ainda há questionamentos sobre a eficiência desse rejuvenescimento e qual a técnica mais adequada (Wendling *et al.*, 2014b). Assim, para que a estaquia seja viável, são necessários estudos prévios sobre a capacidade de resgate do material adulto visando a eficiência da retomada à divisão celular e consequente enraizamento, também sobre o ambiente de propagação adequado e os tipos de propágulos (Dias *et al.*, 2012).

Fatores que influenciam o enraizamento

A formação de raízes adventícias determina o sucesso da propagação por estaca e ela ocorre em três fases: formação de células meristemáticas (indução), diferenciação em primórdios radiculares (iniciação) e desenvolvimento e emergência das novas raízes (expressão ou alongação) (Hartmann *et al.*, 2011). Todo o mecanismo é regido por fatores externos (umidade, temperatura, luz e substrato) e os internos (condição fisiológica da matriz, idade da matriz, tipo de estaca) (Paiva e Gomes, 2005).

Os fatores externos são controlados segundo o sistema de condução e manejo dado ao ambiente de propagação, que varia de acordo com a espécie propagada. A umidade é um dos fatores primordiais para o sucesso, pois, o seu alto grau mantém a turgidez do propágulo evitando a desidratação do material (Paiva e Gomes, 2005; Zuffellato-Ribas e Rodrigues, 2001). Ela é controlada pelo tempo, frequência e vazão da irrigação.

A temperatura está diretamente ligada ao metabolismo, elevando a taxa de enraizamento até um ponto ótimo, a partir do qual o enraizamento é prejudicado e a mortalidade dos propágulos aumenta (Rasmussen *et al.*, 2009). Paiva e Gomes (2005) afirmam que a maior temperatura do substrato em relação a temperatura do ar proporciona uma maior atividade da base da estaca, com redução da taxa de respiração e da perda d'água pela parte aérea, mantendo o bom estado fisiológico do material.

A luminosidade envolve irradiância, fotoperíodo e qualidade da luz, sendo fonte de energia necessária à produção de fotoassimilados, como carboidratos e auxinas, exigidos para o enraizamento (Xavier *et al.*, 2013). A redução da luminosidade em relação ao meio externo também está associada ao controle de temperatura e umidade do ambiente.

A função do substrato é sustentar as estacas e oferecer condições adequadas para o desenvolvimento e crescimento do sistema radicular (Xavier *et al.*, 2013). Pra Alfenas *et al.* (2009) a escolha do substrato deve levar em consideração as suas características físico-químicas e o comportamento da espécie a ser propagada, bem como a sua facilidade de obtenção. Segundo os mesmo autores, é considerado ideal quando tem composição uniforme, baixa densidade, estabilidade volumétrica e granulométrica, boa porosidade, elevada capacidade de troca de cátion (CTC), boa retenção de água, aeração e drenagem e também isenção de pragas e patógenos. Em espécies de fácil enraizamento, o tipo de substrato não tem grande influência na emissão de raiz, porém, para as de difícil enraizamento, a escolha é determinante na porcentagem e qualidade do sistema radicular formado (Xavier *et al.*, 2013).

Os fatores internos que rege o mecanismo de enraizamento são conduzidos pela fisiologia da planta, que se alteram com o passar dos anos. O avançar da idade promove alterações na escala morfológica, anatômica e fisiológica dos vegetais que vão interferir negativamente no potencial de enraizamento e vigor das estacas (Wendling e Xavier, 2001; Santos *et al.*, 2011; Wendling *et al.*, 2014a).

Espécies lenhosas adultas normalmente possuem dificuldades de enraizar, pois a especialização de suas células é tamanha, que aumenta a dificuldade da desdiferenciação celular e consequente formação das células meristemáticas (Negrelle e Doni, 2001; Hartmann *et al.*, 2011). A desdiferenciação é a retomada das células à capacidade de se diferenciar em uma célula especializada qualquer e de se dividir (Hartmann *et al.*, 2011). Assim, estacas originadas de mudas possuem maior potencial de enraizamento do que as de indivíduos adultos (Menezes, 2006; Ky-Dembele *et al.*, 2011).

A juvenilidade tem sido um dos principais fatores que afetam o sucesso da propagação vegetativa por estaca (Hartmann *et al.*, 2011). O uso do propágulo com maior grau de juvenilidade permite a obtenção de um maior percentual, velocidade e qualidade de enraizamento, bem como uma melhor qualidade das mudas produzidas (Wendling e Xavier, 2001).

Uma forma de reverter a planta da fase madura para a juvenil é o rejuvenescimento do material com a indução a emissão de novos brotos (Bitencourt *et al.*, 2009; Ky-Dembele *et al.*, 2011; Melo *et al.*, 2012). Para o *Eucalyptus*, gênero com alto desenvolvimento da tecnologia de propagação vegetativa no Brasil, o rejuvenescimento por poda drástica ou corte raso da árvore resulta em estacas com alto potencial de enraizamento (Wendling e Xavier, 2001).

O efeito da maturidade no enraizamento de estacas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) foi observado por Bitencourt *et al.* (2009). Propágulos retirados de brotações do ano, em árvores de 13 anos de idade, obtiveram um menor enraizamento quando comparadas com estacas de brotos rejuvenescidos pela decepa de árvores com 17 anos. Ou seja, mesmo sendo de uma árvore mais velha, o material rejuvenescido possui maior capacidade de enraizar do que um material obtido de um adulto mais novo.

Árvores lenhosas adultas possuem gradiente de juvenilidade ao longo do tronco. Os meristemas mais basais se formaram no período das primeiras divisões celulares, portanto maior as características juvenis, logo, maior o potencial de enraizamento. Isto se deve à conservação das células formadas na fase juvenil da planta, mantendo características como

as capacidades de diferenciação e multiplicação celular, necessárias à formação de raízes na estaca (Hartmann *et al.*, 2011).

A posição de coleta da estaca no ramo também tem efeito sobre o enraizamento. As brotações laterais mais próximas do ramo ou caule central da árvore apresentam maior grau de juvenildade do que as partes mais extremas (Hartmann *et al.*, 2002). Em um estudo com o maracujazeiro amarelo (*Passiflora actinia*) Albuquerque Júnior *et al.* (2013) observaram maior enraizamento, número médio de raízes e comprimento médio das raízes em estacas da parte basal do ramo quando comparadas com as da parte intermediária e apical. As estacas desta última posição morreram. Já em um teste com o pau-jacaré (*Piptadenia gonoacantha*), Hernández *et al.* (2012) observou um melhor enraizamento e vigor das raízes em estacas de brotações epicornicas da porção apical do que da intermediária e basal.

Em espécies lenhosas adultas a posição no ramo está associada ao grau de lignificação. Segundo Hartmann *et al.* (2002) as partes jovens de um ramo, ou seja, as partes herbáceas, não enraízam ou enraízam com dificuldade devido a poucas reservas e substâncias favoráveis ao enraizamento. No entanto, segundo os mesmos autores, as partes maduras, lignificadas, possuem dificuldades para enraizar devido à dificuldade para a desdiferenciação das células e da passagem das raízes pelos tecidos lignificados.

Em guaco (*Mikania glomerata*), estacas semilenhosas com folhas brotaram antes e com mais eficiência do que as lenhosas e também as herbáceas (Negrelle e Doni, 2001). A sobrevivência dos brotos está ligada a emissão de raízes, logo, pode-se dizer que o grau de lignificação e a pouca reserva interferiram no enraizamento. Já com a candeia (*Eremanthus erythropappus*) os maiores percentuais de enraizamento foram encontrados para as estacas apicais de rebrota e com folhas do que para basais (Melo *et al.*, 2012).

Apesar das herbáceas não possuírem substâncias favoráveis armazenadas, como os carboidratos que são fontes de energia e carbono, detêm a vantagem de possuir células meristemáticas ativas, aptas à divisão celular (Negrelle e Doni, 2001; Hartmann *et al.*, 2011). Essa característica, juntamente com a manutenção da fotossíntese pela presença de folhas, pode favorecer o melhor enraizamento deste material (Negrelle e Doni, 2001; Leandro e Yuyama, 2008).

Pode-se perceber que, além dos já citados posição da estaca na árvore e diferenciação dos tecidos, também podem influenciar a propagação por estaquia a quantidade de reservas armazenadas (Hartmann *et al.*, 2011; Oliveira *et al.* 2012). O teor

de carboidrato, assim como substâncias promotoras ou inibidoras do enraizamento, apresenta variação ao longo do ramo e da árvore, sendo utilizado como fonte de carbono para a brotação e posterior formação das raízes (Hartmann *et al.*, 2011).

A quantidade de amido está associada ao enraizamento e sobrevivência de estacas (Oliveira e Ribeiro, 2013). Quanto mais próximo da base do ramo se retira as estacas, condições mais favoráveis a formação de muda elas possuem (Albuquerque Júnior *et al.*, 2013). Segundo Hartmann *et al.* (2011), o ramo possui variação na concentração de carboidratos, substâncias nitrogenadas, aminoácidos, auxinas e compostos fenólicos devido ao gradiente das condições fisiológicas, aumentando quanto mais próximo da parte apical que está sob intenso metabolismo.

A presença das folhas permite a manutenção da síntese de carboidratos pelo processo da fotossíntese, fonte de energia e carbono para a formação das raízes. Também possibilita sintetizar auxinas e cofatores necessários para o estímulo e crescimento das raízes adventícias (Hartmann *et al.*, 2011). Isso justifica o baixo enraizamento em estacas herbáceas e semilenhosas de castanha de cutia (*Couepia edulis*) com ausência de folhas e o maior em estacas herbáceas com folhas inteiras ou reduzidas a metade (Leandro e Yuyama, 2008).

A auxina endógena (AIA) é sintetizada pelas partes novas, regiões meristemáticas (gemas, folhas jovens e ápice das raízes) e são transportadas para as partes basais da planta, onde estimulam o enraizamento se o balanço hormonal entre auxinas, giberelinas, citocininas e cofatores estiver apropriado (Hartmann *et al.*, 2011). A sua concentração em determinado órgão ou tecido está relacionada com o crescimento, estimulando, inibindo e promovendo a diferenciação. Com a confecção da estaca, esse fitohormônio se armazena na base destas juntamente com carboidratos, compostos nitrogenados e outras substâncias. Sua ação envolve a síntese de proteínas para promover o alongamento celular (Zuffellato-Ribas e Rodrigues, 2001).

Melhores resultados da estaquia podem ser conseguidas em algumas espécies com um tratamento prévio do material vegetativo com auxina exógena. Esta, após aplicação, aumenta a produção do AIA endógeno e atua acelerando o seu encontro com os aminoácidos que sintetizam as proteínas necessárias ao enraizamento (Souza *et al.*, 2007).

A quantidade de auxina exógena a ser aplicado varia com a espécie (Dias *et al.*, 2012) e pode ser afetado também pela idade fisiológica da planta, condições ambientais e parte da planta (Hartmann *et al.*, 2011). O mais utilizado em propagação vegetativa é o

AIB (ácido indolbutírico), porém, para algumas espécies nativas, apesar de aumentar o número de raízes por estacas, o seu uso não apresenta diferença significativa em termos da porcentagem de enraizamento quando comparado com a não utilização (Xavier *et al.*, 2003; Bastos *et al.*, 2004; Leandro e Yuyama, 2008; Bitencourt *et al.*, 2009; Sampaio *et al.*, 2010; Santos *et al.*, 2011; Melo *et al.*, 2012). Já no camu-camu (*Myrciaria dubia*), o uso dos reguladores de crescimento em estacas de plantas adultas com um par de folhas aumentou a porcentagem de enraizamento (Silva *et al.*, 2009).

Contudo, para a utilização da estaquia como forma de propagação não basta promover o enraizamento, é necessário a formação de um bom sistema radicular para o desenvolvimento da parte aérea de qualidade. Um sistema radicular bem formado possui no mínimo quatro raízes principais, bem distribuídas, fisiologicamente ativas, com boa agregação ao substrato e sem enovelamento (Alfenas *et al.*, 2009). Assim é possível se ter uma muda de qualidade, com relação parte aérea e parte radicular equilibrada, tornando eficiente o processo de estaquia.

A propagação vegetativa no pau-rosa

O material ideal para a estaquia é aquele que impede ou diminui as perdas por inaptidão do propágulo (Wendling e Xavier, 2001). Para isso, é necessária a obtenção de brotos viáveis, com boa capacidade de enraizamento e de se desenvolver em uma nova planta, características essas que estão associadas com a origem genética da planta matriz e a juvenilidade das brotações (Ferrari *et al.*, 2004).

Os ramos juvenis, obtidos tanto das mudas quanto das rebrotas de plantas adultas, são considerados o material ideal para a propagação vegetativa por estaquia do pau-rosa (Menezes, 2006; Leite *et al.*, 2001; Sampaio *et al.*, 1989). Favorável ao uso dessa técnica, a espécie tem a boa capacidade de rebrota e o procedimento de exploração que, com o abate da árvore ou poda intensa dos galhos, estimulam a produção de brotos (Ohashi *et al.*, 2004; Sampaio *et al.*, 2005; Sampaio *et al.*, 2007). Tal situação torna oportuno o uso desse material rejuvenescido como propágulo.

Para a propagação vegetal dessa espécie já foi observado que o fator juvenilidade é fundamental nos propágulos (Menezes, 2006). Os resultados em estacas de material vegetal rejuvenescido (Sampaio *et al.*, 1989) e por material juvenil de mudas (Menezes, 2006) foram superiores aos resultados de estacas de material adulto (Menezes, 2006).

Além disso, a sobrevivência do adulto foi muito baixa quando comparada com a de estacas obtidas de mudas (Tabela 1).

Tabela 1: Comparação da sobrevivência e enraizamento de estacas obtidas de materiais de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) com diferentes graus de juvenilidade

Artigos	Material	Sobrevivência	Enraizamento
Sampaio <i>et al.</i> , 1989	Rebrota de cepa	95%	80%
	Juvenil	75%	72%
Menezes, 2006	Adulto	16%	8%
	Mini-estaca	98%	88%
Sampaio e Costa, 2010	Juvenil	68%	71%
	Mini-estaca	98%	88%

Assim sendo, é possível afirmar que a maior juvenilidade dos propágulos resulta em uma maior probabilidade de sucesso na propagação dessa espécie e na velocidade de surgimento de raízes (Menezes, 2006). No entanto é necessário aperfeiçoar as técnicas de estaquia já aplicadas (Sampaio *et al.*, 1989; Menezes, 2006; Sampaio e Costa, 2010) avaliando o grau de rejuvenescimento do material propagativo e o tipo de estacas a se usar.

A importância da folha nas estacas é evidenciada no estudo de Menezes (2006) em que o menor enraizamento foi obtido em estacas de *A. rosaeodora* com menor retenção foliar. Sampaio *et al.* (1989) concluíram que a presença das folhas é determinante para estimular o desenvolvimento radicular e a sobrevivência de estacas da espécie. Estacas sem folhas não enraízam (Sampaio e Costa, 2010).

A propagação por mini-estacas e estacas de material juvenil do pau-rosa independe do uso do regulador de crescimento AIB para o enraizamento, porém, o seu uso pode aumentar a porcentagem de sobrevivência e o número de raízes por estacas (Menezes, 2006; Sampaio e Costa, 2010). Em material adulto, o seu uso pode aumentar a quantidade de raízes emitidas por estacas e tende a elevar o percentual de enraizamento (Menezes, 2006). No entanto, para a mesma espécie *in vitro*, o AIB foi crucial para a emissão da raiz (Jardim *et al.*, 2010), assim como em mini-estacas da *Aniba canellila*, mesmo gênero do pau-rosa (Sampaio *et al.*, 2010). Cavusoglu *et al.* (2014), estudando o efeito de auxinas em variedades de louro (família Lauraceae como o pau-rosa) observou que o resultado do uso do AIB depende da variedade da espécie. Sendo assim, faz-se necessário mais estudo com a auxina, testando diferentes concentrações, reguladores e forma de aplicação para entender a influência da auxina nessa espécie.

3. OBJETIVO

Avaliar o enraizamento de estacas provenientes de brotações epicórmicas da decepa de pau-rosa adulto utilizando diferentes substratos, concentrações de auxina em pó e tipo de estaca, bem como descrever o processo anatômico da formação de raízes adventícias.

4. MATERIAL E MÉTODOS

As estacas utilizadas para a instalação dos experimentos descritos a seguir foram coletadas em um plantio de pau-rosa com 11 anos de idade pertencente à empresa Magaldi Agrocomercial e Industrial Ltda, município de Maués, situado no extremo leste do Estado do Amazonas, entre os rios Madeira e Tapajós. O clima local é quente e úmido, do tipo “Am” na classificação de Köppen-Geiger (Kottek et al., 2006), com estação seca de pequena duração, com registro de temperatura média em 2015 de 26,6°C, e médias máximas e mínimas entre 27,2°C e 26,0°C (Embrapa, 2016).

O plantio possui 334 árvores em espaçamento 3,0 x 4,0 m com 0,4 ha, sobre um solo do tipo Latossolo Vermelho-amarelo Distrófico (Krainovic, 2011). O manejo da área consistiu em dois desbastes seletivos, realizados em março de 2014 e em fevereiro de 2015, e adubação das cepas do último corte com cloreto de potássio (30g/toco) e sulfato de amônio (1:2) após três meses. Os ensaios de estaquia foram estabelecidos utilizando as brotações epicórmicas provenientes da decepa de árvores adultas dos dois desbastes (aproximadamente 35 indivíduos).

Estabelecimento e condução dos experimentos

Para a realização deste estudo, três experimentos foram conduzidos, sendo o primeiro e o terceiro instalados no viveiro da empresa Magaldi Agrocomercial e Industrial Ltda, no município de Maués, e o segundo na casa de vegetação do Campo experimental da Embrapa Amazônia Ocidental, município de Manaus, Estado do Amazonas.

Os propágulos foram coletados de brotações mais vigorosas, sendo as estacas confeccionadas com corte em bisel na base e reto no ápice, com o comprimento médio de 11 ± 1 cm, mantendo-se um par de folhas reduzidas a 25% da sua área foliar (Figura 4). Durante o processo de preparo, as estacas foram mantidas em baldes com água e ao final, submetidas ao processo de desinfestação em hipoclorito de sódio comercial (2,5% de cloro

ativo) a 0,5% por 10 minutos, sendo em seguida lavadas em água corrente. Após o preparo, as estacas foram plantadas, enterrando-se até 1/3 do seu comprimento em tubetes com os devidos substratos.



Figura 4: Ilustração do propágulo coletado e estaca cortada.

Em junho de 2015 foi instalado o primeiro experimento (E1), para o qual se coletou ramos de brotações provenientes do segundo desbaste. Após a coleta, realizada nas primeiras horas da manhã, as brotações foram transportados para o viveiro da empresa em recipiente com água a fim de evitar a desidratação dos tecidos.

Foram cortadas 480 estacas com diâmetro médio de $5,0 \pm 1,5$ mm, as quais foram tratadas com ácido indolbutírico (AIB) na forma de talco nas concentrações de 0,0; 1,5; 3,0 e 6,0 g Kg⁻¹. O preparo destes tratamentos consistiu na dissolução do AIB em álcool etílico absoluto misturado a talco inerte industrial, sendo que para uma melhor homogeneização, o álcool foi acrescentado até a formação de uma pasta, sendo em seguida transferido para estufa a 35-38°C, onde permaneceu até a completa evaporação do solvente. Para o tratamento controle foi aplicado o talco sem AIB.

Imediatamente após o tratamento, as estacas foram plantadas em tubetes de polipropileno com capacidade de 180 cm³, contendo como substrato: areia lavada; vermiculita média; areia + vermiculita (1:1). O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados em esquema fatorial 3 x 4 (substratos e concentrações de AIB), com quatro repetições, 12 tratamentos e 10 estacas por parcela.

No segundo experimento (E2), instalado em novembro de 2015, ramos e brotações derivados de cepas do segundo desbaste foram coletados nas primeiras horas da manhã, devidamente acondicionados em caixas de isopor com folhas de jornal umedecidas e encaminhados via fluvial para a Embrapa Amazônia Ocidental, em Manaus. Ainda no mesmo dia, as estacas foram mantidas em casa de vegetação com nebulização intermitente imersas em água até a manhã seguinte, quando foram cortadas e separadas. As estacas

foram plantadas, sem tratamento com regulador de crescimento, em tubetes de polipropileno com capacidade de 180 cm³, contendo areia lavada e vermiculita de granulometria média (1:1).

Foram preparadas 240 estacas com diâmetro médio de $5,0 \pm 1,7$ mm, sendo cada uma das três porções do ramo das brotações (basal, intermediária e apical) um tratamento contendo 20 estacas por parcela (Figura 5A). As estacas preparadas direto das brotações epicórnica (48 estacas), a partir de agora chamada de estacas do tipo rebroto, consistiram em mais de uma estaca por brotação misturadas entre si para compor o quarto tratamento, 12 estacas de $5,3 \pm 1,9$ mm de diâmetro (Figura 5B). O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e quatro repetições.

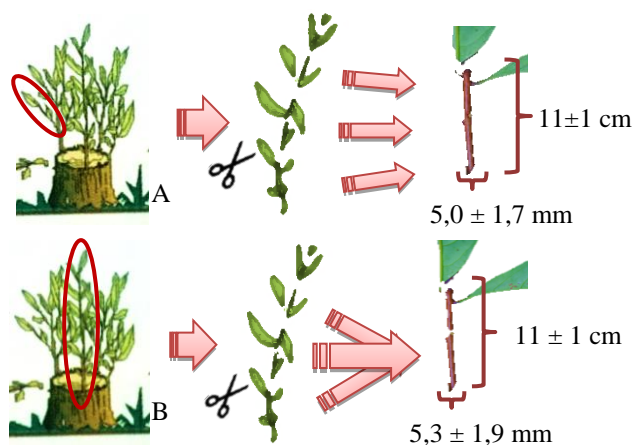


Figura 5: Representação da coleta e confecção dos propágulos: A – estacas obtidas das porções basal, intermediária e apical do ramo de brotações epicórnica; B – mais de uma estaca obtida direto da brotação epicórnica e misturadas entre si para compor a parcela das estacas do tipo rebroto.

Para o estudo anatômico foi estabelecido um terceiro experimento (E3) em junho de 2015, no viveiro da empresa em Maués. Para tal, foram preparadas 70 estacas da porção intermediária do ramo de brotações epicórnica, originadas do primeiro desbaste, com diâmetro médio de $5,0 \pm 1,0$ mm. Destas, metade foram tratadas com solução hidroalcoólica (50%) de AIB a 3.000 mg L^{-1} , sendo as bases imersas por 10 segundos na solução, e o restante, não foram submetidas ao tratamento com AIB. O preparo da solução hidroalcoólica consistiu na dissolução do ácido indolbutírico em álcool etílico absoluto, sendo o volume completado até a obtenção da concentração final desejada na proporção 1:1 (água: álcool).

Imediatamente após o tratamento, as estacas foram plantadas em bandejas plásticas (60 x 41 x 18 cm) com 16 furos e espaçadas 6,0 x 6,0 cm, tendo como substrato areia lavada e vermiculita média, na proporção 1:1.

O ambiente do viveiro no qual foram conduzidos os ensaios E1 e E3 (Figura 6A) consistiu em área com teto e laterais teladas (70% de sombreamento) e irrigação por nebulização das 6 às 18 horas, acionada automaticamente por 2 minutos a cada 12 minutos. Para controle fitossanitário, foram realizados a cada 30 dias pulverizações com fungicida e adubação foliar. O controle de umidade e temperatura (Figura 7) foi realizado com auxílio de termohigrômetro instalado junto às bancadas dos experimentos.

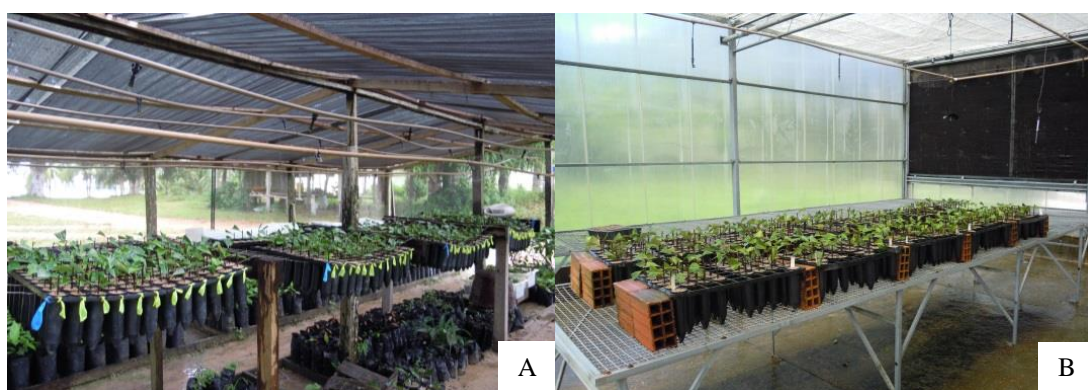


Figura 6: Ambientes de enraizamento: A - viveiro em Maués; B - casa de vegetação em Manaus.

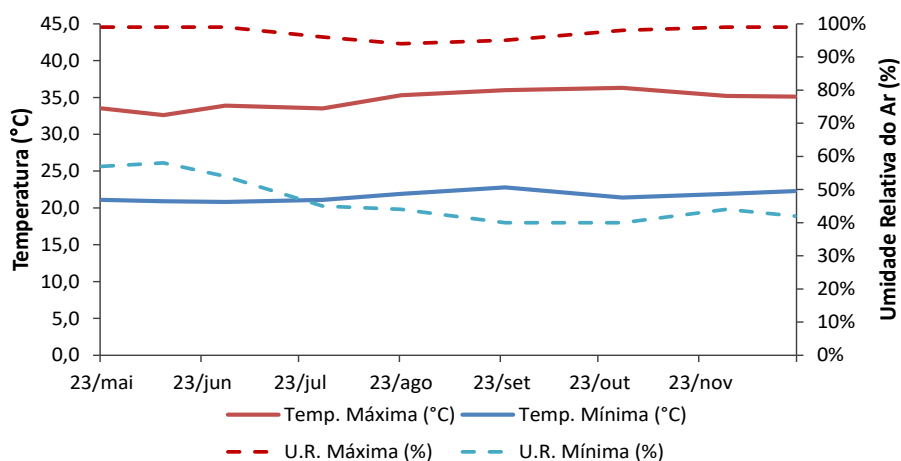


Figura 7: Registros de temperatura e umidade relativa do ar (U.R.), máximas e mínimas, no viveiro de maio a novembro de 2015, município de Maués, Estado do Amazonas.

O ambiente do ensaio E2 consistiu em casa de vegetação com nebulização intermitente automatizada, com temperatura de $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}$ e irrigação acionada automaticamente por 1 minuto a cada 11 minutos. Para o controle fitossanitário foram realizadas pulverizações semanais com fungicida e a adubação foliar (Figura 6B).

Ao final de 150 dias no ensaio E1 e 120 dias no E2 foram avaliadas as seguintes variáveis: sobrevivência (%), enraizamento (%), número de raízes primárias por estaca (quando maior que 3 mm) e comprimento da maior raiz por estaca (cm). No E2 ainda foi avaliado a emissão de brotação (%), número de brotos por estaca, comprimento do maior broto por estaca (cm) e a presença de calos (%).

Análise estatística

Verificou-se a variação dos dados através da análise de variância (ANOVA) pelo teste F (5% de probabilidade) para as variáveis cujo teste de normalidade foi positivo e através do teste Kruskal Wallis, para as variáveis cuja normalidade foi negativa (número de brotos, enraizadas, número de raízes principais e comprimento da maior raiz do E1). A comparação das médias foi realizada pelo teste Tukey a 5% de significância.

No experimento 1, para verificar a influência da brotação (%) no enraizamento (%) e emissão de calo (%), da emissão de calos (%) no enraizamento (%) e das concentrações de carboidratos solúveis (mg g^{-1}) e amido (mg g^{-1}) na sobrevivência (%), brotação (%) e enraizamento (%) das estacas, realizou-se o teste de correlação de Pearson.

Antes das análises dos dados, as médias de porcentagem de sobrevivência, brotação e enraizamento foram transformadas para $\text{arc sen } \sqrt{\frac{x}{100}}$. Os dados numéricos foram transformados em \sqrt{X} .

Determinação do teor de carboidratos

No momento da instalação do E2, sete amostras de 5 cm de comprimento foram retiradas das estacas de cada tratamento, a fim de analisar o teor de carboidratos solúveis e de amido. O material coletado foi congelado em freezer (-18°C) até o momento de sua utilização.

Previamente ao processo de extração, o material vegetal foi seco em estufa a 60°C até se obter peso constante e moído em moinho de bolas até atingir uma granulação fina. No Laboratório de Fisiologia de Plantas da Embrapa Amazônia Ocidental utilizou uma

amostra de 200 mg de massa seca (MS), em triplicata, para realizar a extração alcoólica de açúcares segundo o método de Passos (1996): maceração da amostra com etanol 95%, centrifugação (6.000 rpm por 15 min) e obtenção do sobrenadante; seguido de acréscimo de etanol 80% ao sedimento, banho-maria (aproximadamente 30 min), centrifugação (15 min) e combinação do sobrenadante com o anterior. À solução obtida dessa extração, foi misturada 3 ml de clorofórmio e 5 ml de água para remover clorofila e lipídios (Passos, 1996). O sobrenadante teve o volume final registrado e uma alíquota diluída dez vezes para realizar a leitura no espectrofotômetro.

O precipitado resultante foi seco em estufa e utilizado para a extração de amido com o ácido perclórico a 35% (p/v) e centrifugação (15 min a 1.000 g) (Passos, 1996). O sobrenadante teve seu volume registrado e uma alíquota diluída cem vezes para a realização da leitura de absorvância.

As determinações de carboidratos solúveis e amido foram feitas com o reagente de antrona (Passos, 1996, adaptado de Morris, 1948 e Yemm & Willis, 1954). A absorvância foi lida em espectrofotômetro SP 2000 UV a 625 nm, utilizando uma curva padrão de glicose. Os resultados foram expressos em mg de glicose g^{-1} MS e mg de amido g^{-1} respectivamente.

Análise histológica

No momento da instalação do E3 foram coletadas amostras de 2 cm da base de quatro estacas como testemunha, tempo zero (t_0). No decorrer do experimento, quatro estacas aleatórias foram coletadas em cada grupo (com e sem o uso do AIB) nos períodos (t) de 7, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 dias pós estaqueamento, totalizando 8 amostras por período. As amostras foram fixadas em FAA_{70%} por 96 horas (Johansen, 1940) e armazenadas em álcool etílico 70% (v/v) até o momento de sua utilização.

No Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Amazônia Ocidental, as amostras foram seccionadas em três subamostras, das quais pelo menos uma foi ainda seccionada longitudinalmente ao meio para realizar cortes radiais (Figura 8). Após uma série etílica de desidratação a vácuo (2 horas cada) e posterior pré-infiltração por dois dias (vácuo de 2 horas/dia), as porções foram imersas em solução infiltração. Ao fim de um mês, as amostras foram incluídas em historesina (GMA-glicol metacrilato) (Feder e O'Brien, 1968).

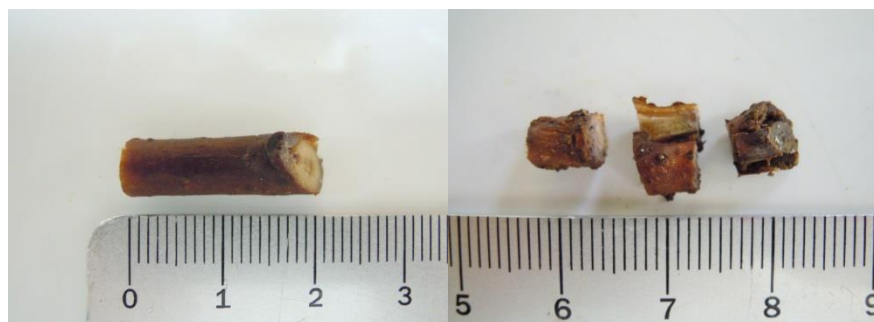


Figura 8: Amostra da base da estaca do pau-rosa para análise anatômica, seccionada em três subamostras, com uma destas seccionada longitudinalmente ao meio.

Seções histológicas com 6 μm de espessura foram obtidas em micrótomo rotativo automático e coradas com azul de toluidina 1%. Lâminas permanentes foram montadas e observadas com o auxílio de microscópio óptico.

Alguns cortes foram submetidos a testes histoquímicos com lugol a 0,5% para a identificação de grãos de amido, e cloreto férrico, para a identificação de compostos fenólicos.

5. RESULTADOS

No experimento 1 (E1) o fator substrato foi diferente estatisticamente quanto à sobrevivência ($p = 0,0052$) e ao enraizamento das estacas ($p = 0,0088$), enquanto a concentração do AIB diferiu apenas na porcentagem de enraizamento ($p = 0,0292$) (Tabela 2). Não foi observada interação entre substrato e regulador de crescimento para as variáveis avaliadas (Figura 9).

Tabela 2: Valores médios de porcentagem de sobrevivência (PEV), porcentagem de enraizamento (PER), número de raízes primárias por estaca (NR) e comprimento da maior raiz por estaca (CMR) com base no tipo de substrato e na concentração do AIB

Fatores	PEV	PER	NR	CMR
Substrato				
A	69,4 ^b	5,6 ^b	0,8	1,0
V	83,8 ^a	16,9 ^a	1,5	2,5
AV	73,8 ^b	12,5 ^{ab}	1,0	1,8
AIB em pó (mg g⁻¹)				
0,0	75,8	5,0 ^b	0,7	1,3
1,5	75,0	10,8 ^{ab}	0,8	1,5
3,0	72,5	16,7 ^a	1,5	2,5
6,0	79,2	14,2 ^{ab}	1,6	1,8
Média geral	75,6	11,7	1,1	1,8
Erro padrão	2,1	1,7	0,2	0,3

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Dentre os substratos, houve diferença significativa para a porcentagem de sobrevivência e para o percentual de enraizamento. De modo geral, a vermiculita se mostrou mais eficiente, apresentando 83,8% e 16,9% de sobrevivência e enraizamento respectivamente. Para a concentração de AIB, o tratamento a 3,0 mg kg⁻¹ com 16,7% de estacas enraizadas diferiu estatisticamente apenas do tratamento controle, apesar de possuir o maior valor também para o comprimento da maior raiz. Quanto ao número de raízes por estaca, as maiores médias foram obtidas nas maiores concentrações de AIB (Tabela 2).

A figura 9 evidencia a necessidade do uso do AIB para se aumentar o enraizamento nos substratos vermiculita e vermiculita + areia (1:1) e mostra a superioridade destes em relação a areia. Embora tenham ocorrido diferenças significativas tanto entre os substratos, quanto as concentrações do regulador, não houve interação entre os dois fatores.

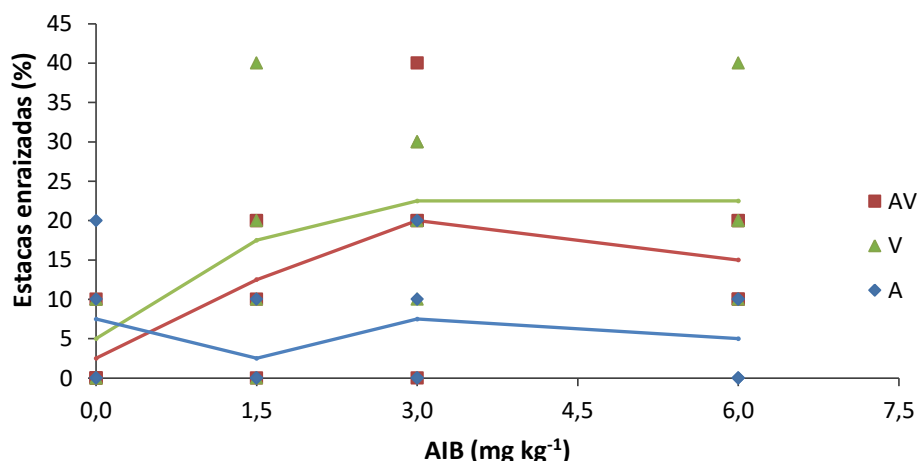


Figura 9: Porcentagem média de estacas enraizadas em areia (A), vermiculita (V) e areia + vermiculita (AV) em função da concentração do AIB em pó e os respectivos pontos médios de dispersão.

No experimento 2, houve diferença estatística entre os tipos de estaca somente para porcentagem de estacas com brotos ($p = 0,0003$) e com calos ($p = 0,0129$). O percentual de sobrevivência pode ser considerado satisfatório, variando de 62,5% a 83,8%, no entanto, os valores de enraizamento são considerados baixos, com uma média geral de 7,6% (Tabela 2).

Tabela 3: Valores médios de porcentagem de sobrevivência (PEV), porcentagem de brotação (PEB), número de brotos por estaca (NB), comprimento do maior broto por estaca (CMB), porcentagem de estacas com calo (PEC), porcentagem de enraizamento (PER), número de raízes por estaca (NR) e comprimento da maior raiz por estaca (CMR) em base função do tipo de estaca

Tipo de estaca	PEV	PEB	NB	CMB	PEC	PER	NR	CMR
Apical	80,0	16,3 ^b	1,5	1,7	1,3 ^b	1,3	0,3	0,3
Intermediária	83,8	17,5 ^b	1,2	1,5	0,0 ^b	1,3	0,3	0,1
Basal	78,8	13,8 ^b	1,7	2,0	2,5 ^b	5,0	1,0	0,7
Rebroto	62,5	47,9 ^a	2,0	2,2	14,6 ^a	22,9	2,6	6,7
Média geral	76,3	23,9	1,6	1,8	4,6	7,6	1,0	1,9
Erro padrão	3,9	4,0	0,1	0,1	1,7	3,3	0,3	0,9

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Dentre os tratamentos, o rebroto teve o melhor desempenho para todas as variáveis analisadas, exceto para a sobrevivência, onde possuiu a menor média (62,5%), com

diferença estatística significativa apenas para a porcentagem de brotação e de estacas com calo. O baixo número de estacas enraizadas e a alta variação dos dados podem ter contribuído para a não significância entre tratamentos nas variáveis.

Ao contrário do E1, no E2 observou-se grande quantidade de brotações nas estacas, fato este que não inibiu o enraizamento dos propágulos, visto que houve uma correlação positiva e significativa ($p = 0,0179$) de 58,2% entre as emissões de brotos e de raiz. A correlação também foi positiva entre a brotação e a porcentagem de calo (78,8%, $p = 0,0003$) e entre a presença de calos e o enraizamento (72,2%, $p = 0,0016$).

Não foi observada diferença significativa entre os teores de carboidratos solúveis e totais dos diferentes tipos de estaca. Já os teores de amido apresentaram diferença significativa ($p = 0,0249$), com o tratamento basal, de menor teor (28,6 mg g⁻¹ de MS), diferindo dos demais (Tabela 3).

Tabela 4: Valores médios dos teores de carboidratos solúveis, amido e carboidratos totais (mg g⁻¹ de massa seca) em função do tipo de estaca

Tipo de estaca	Carboidratos Solúveis	Amido	Carboidratos Totais
Apical	61,1	42,9 ^a	103,9
Intermediária	65,1	44,1 ^a	109,2
Basal	57,3	28,6 ^b	86,0
Rebroto	55,4	54,4 ^a	109,8
Média geral	59,7	42,5	102,2
Erro padrão	2,1	3,0	3,4

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os teores de amido correlacionaram positiva e significativamente ($p = 0,0229$) com a emissão de brotos (64,7%). Os valores de carboidratos solúveis tiveram correlação positiva com a sobrevivência das estacas (57,9%, $p = 0,0483$). A porcentagem de enraizamento não correlacionou com nenhuma das variáveis.

Análise histológica

Os cortes histológicos evidenciaram o crescimento secundário nas estacas e a presença de esclerênquimas em formato de um anel contínuo (fibras e esclereídes), entre floema e córtex, e solitárias ou em grupos, no córtex e medula (Figura 7A). Aos 7 dias pós-estaqueamento mudanças morfológicas não foram evidentes. À nível anatômico, foi

possível encontrar divisões celulares na periderme, divisões anticlinais no raio do floema, e periclinais no câmbio vascular.

Aos 15 dias ocorreu mudança na coloração da base da estaca e a formação de novas células devido a atividade do câmbio vascular. Houve formação de um tecido parenquimático desorganizado na periderme e a evidência de lenticelas com tecido de enchimento (Figura 7B). Com 30 dias as divisões se intensificaram, ficando visível a formação de um tecido parenquimático na região do xilema. As mitoses cambiais também derivam novas células no floema (Figura 7C).

Aos 45 dias observa-se intensa multiplicação celular, sendo um tecido rico em mucilagens e pectinas formado na região do câmbio. Esse tecido engloba partes do novo tecido xilemático e se mistura com o floema, espalha-se sob o anel esclerenquimático até conseguir romper a periderme. Com isso ocorre o aumento pontual do diâmetro da base da estaca e, em muitos casos, conseqüente desprendimento da casca. Nele há a formação de núcleos meristemáticos, com o parênquima xilemático muitas vezes ao centro, e de núcleos esclerenquimáticos, composto por células meristemáticas em volta dos feixes de esclerênquima (Figura 7D).

Com 60 dias, observa-se um maior número de núcleos meristemáticos, a visualização de núcleos vasculares e de primórdios radiculares (Figura 7E). Aos 90 dias são visualizadas as primeiras raízes que têm origem no tecido parenquimático do xilema formado devido à atividade cambial (Figura 7F).

Os testes histoquímicos permitiram observar a presença de grãos de amido em grandes quantidades nos cortes histológicos de estacas com 7 dias de plantio, não ocorrendo nos demais tempos. Estes corpos de amido se concentraram na região da medula, próximo ao xilema, e nos raios do xilema. Os compostos fenólicos passaram a ficar evidentes a partir do 45º dia, estando presentes nos raios do xilema e espalhados no calo e massa de células em diferenciação.

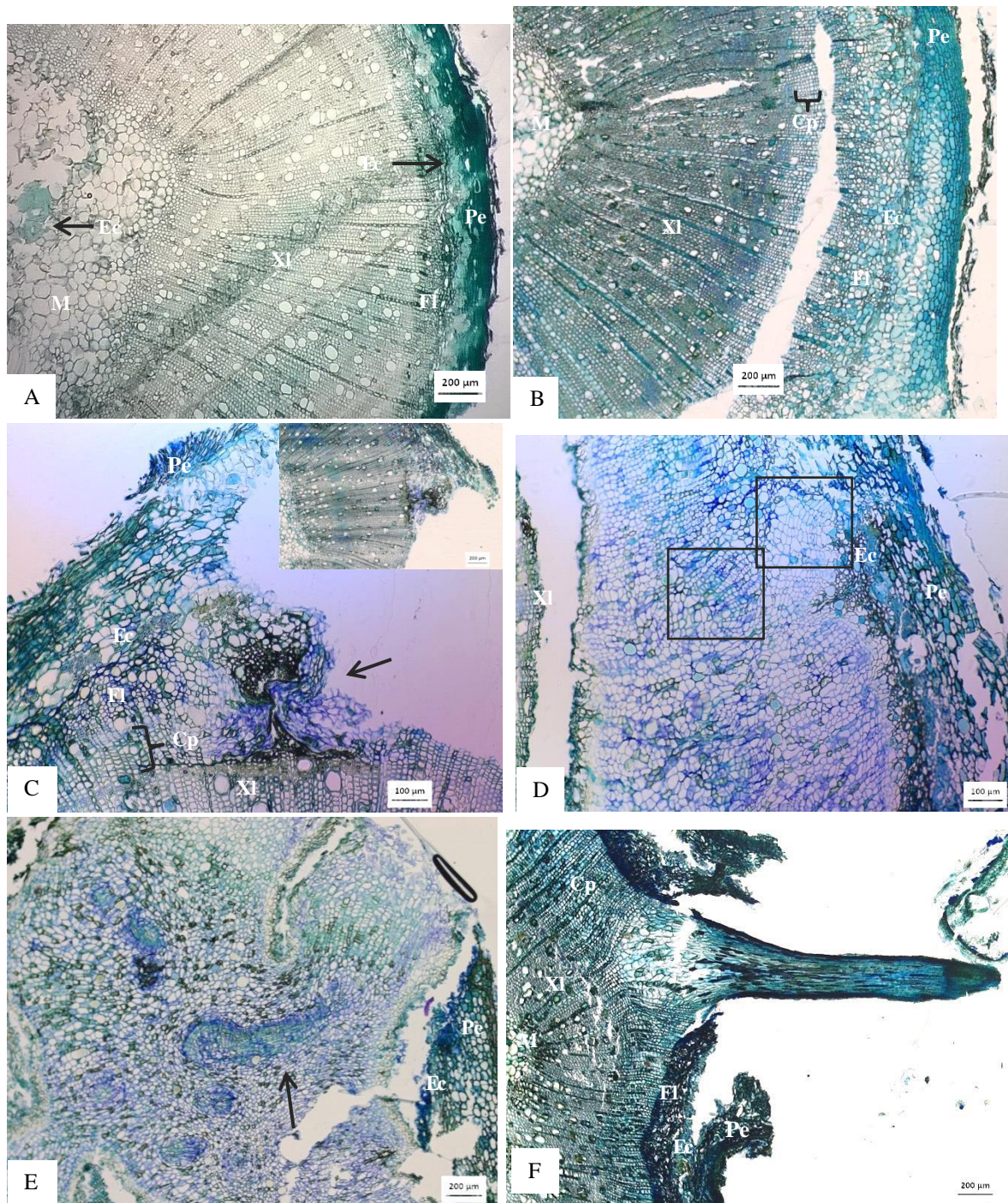


Figura 7: Secções transversais da base da estaca do pau-rosa aos 0, 15, 30, 45, 60 e 90 dias após o estaquiamento, onde: A (0 dias) - Evidência do crescimento secundário nas estacas e presença de esclerênquima em forma de anel contínuo e agrupada (setas); B (15 dias) – Corte mostrando novas células derivadas do câmbio vascular (colchete) e formação de um tecido parenquimático desorganizado na periderme; C (30 dias) – Formação do parênquima xilemático derivado do câmbio (colchete) e início da formação do tecido rico em mucilagens e pectinas (seta); D (45 dias) – Tecido com mucilagens e pectinas

desprendendo a casca. Detalhe do grupo de células iniciais e do núcleo meristemático; E (60 dias) – Desenvolvimento de primórdio radicular (seta) a partir da proliferação parenquimática, resultante da atividade do câmbio vascular, com alguns núcleos vasculares ao redor; F (90 dias) – Desenvolvimento da raiz adventícia a partir do tecido parenquimático do xilema, resultante das divisões celulares do câmbio vascular. M = Medula, Xl = xilema secundário, Fl = floema, Cp = células parenquimáticas, Ec = esclerênquimas (feixes e/ou esclereides), Pe = periderme.

6. DISCUSSÃO

Dentre os três tipos de substratos, a vermiculita foi a que apresentou o melhor resultado para sobrevivência (83,8%) e enraizamento (16,9%) das estacas, seguido da mistura areia + vermiculita (1:1) e da areia (Tabela 1). Acredita-se que esse resultado esteja associado principalmente à capacidade de retenção da água, uma vez que no momento da avaliação do experimento, foi observada maior umidade do substrato nas estacas enraizadas, especialmente com maior número e comprimento de raiz, do que nas sem raiz. Corroborando com este resultado Sampaio e Costa (2010), ao compararem a influência de substratos na estaquia de pau-rosa de material juvenil, observaram que o substrato composto de vermiculita e casca de arroz carbonizada também se destacou quanto à sobrevivência, enraizamento e formação de calos, quando comparado com o composto de areia e plantmax. Os autores atribuíram esse resultado à boa capacidade de retenção de água, maior espaço poroso e menor densidade existente no substrato superior.

Ao testar diferentes substratos no enraizamento de pessegueiro cv. Okinawa, Tofanelli *et al.* (2003) atribuíram ao melhor resultado da vermiculita no enraizamento de estacas lenhosas, o bom equilíbrio da relação água/ar. Mendonça *et al.* (2010), estudando o melhor substrato para enraizar estacas lenhosas do ramo de amoreira, observou que para sobrevivência e enraizamento, a areia possuiu os piores resultados. Na análise das propriedades físicas feita pelos autores, a areia teve a menor porosidade preenchida por água e a maior densidade, além de estar entre os de menor porosidade de aeração. Xavier *et al.* (2013) afirma que um bom substrato tem aeração suficiente para a oxigenação dos tecidos e umidade favorável ao desenvolvimento e crescimento do sistema radicular. A alta capacidade de drenagem da areia e maior densidade podem ter sido os responsáveis pelo seu pior desempenho neste estudo. A compactação quando excessiva, dificulta a formação

de raízes e impede a drenagem da água, que acumulada pode promover asfixia ou o envelhecimento da raiz, porém quando baixa, permite espaços vazios no recipiente que pode oxidar a base da estaca e promover a má formação das raízes (Alfenas *et al.*, 2009).

A influência do substrato depende das condições de enraizamento, da espécie propagada e da variável analisada (Wendling *et al.*, 2007). O fato de um substrato não ter resultado satisfatório, não indica que o mesmo não possa favorecer outra variável, em outras condições de enraizamento. Além do mais, eles podem ser combinados integrando suas características físicas para formar um composto mais apropriado.

Neste estudo, as diferentes concentrações do AIB não alteraram significativamente o efeito dos substratos (Figura 9), no entanto, a auxina analisada isoladamente influenciou o enraizamento das estacas proporcionando um aumento das variáveis relacionadas à raiz (enraizamento, número e comprimento de raiz) até a concentração de 3,0 mg kg⁻¹, a partir da qual diminuíram. Para a porcentagem de enraizamento, esse pico (16,7%) diferiu significativamente da testemunha (5,0%) (Tabela 2), indicando que o regulador deve ser usado para um maior sucesso nessa variável.

A mesma tendência de crescimento e posterior queda foi observada por Menezes (2006) para o enraizamento de estacas da mesma espécie, provenientes de mudas seminais, mas sem diferença estatística entre as médias. Segundo Dias *et al.* (2012), a auxina pode influenciar o enraizamento de diversas espécies desde que se alcance o balanço hormonal ótimo nos tecidos, se for além, pode causar o efeito contrário e promover fitotoxicidade (Xavier *et al.*, 2013; Wendling *et al.*, 2015). Das três fases que compõem o processo de enraizamento – indução, iniciação e expressão ou alongação – as duas primeiras são dependentes da presença da auxina, já na última, o crescimento do primórdio pode ser inibido pela presença de substâncias dessa classe (Souza *et al.*, 2007; Xavier *et al.*, 2009).

Na literatura alguns autores não encontraram relação entre o enraizamento de estacas e mini-estacas da *A. rosaeodora* com o uso do AIB líquido, mas a sua presença aumentou a porcentagem de sobrevivência das estacas e o número de raízes emitidas (Menezes, 2006; Sampaio e Costa, 2010). Já na formação de raízes em explantes de plântulas da mesma espécie, o uso do regulador AIB foi crucial para o processo de indução (Jardim *et al.*, 2010). Também em mini-estaca de mudas da *Aniba canellila*, o uso dessa mesma auxina fez diferença na emissão, número e comprimento das raízes (Sampaio *et al.*, 2010). Tais resultados corroboram com o deste experimento uma vez que a necessidade do

uso do AIB pode variar com a posição de coleta de estaca (Hernández *et al.*, 2012), época de coleta, grau de juvenilidade e cultivares (Cavusoglu *et al.*, 2014).

A diferença do efeito do AIB neste estudo e o apresentado por Sampaio *et al.* (1989), Menezes (2006) e Sampaio & Costa (2010), pode estar na forma de aplicação. Esses autores utilizaram a via líquida, enquanto neste estudo, utilizou-se a via talco com uma diferença do maior enraizamento em relação ao controle de 11,7%. Em *Annona squamosa* a aplicação de AIB em pó foi 20% mais eficiente do que a via líquida, podendo essa eficiência estar ligada ao contato mais longo e moderado do material com a auxina (Salvador *et al.*, 2014). No formato sólido, a substância adere à base da estaca mantendo o tecido vegetal em contato por mais tempo com o regulador e permitindo uma absorção gradual. Testando as duas vias de aplicação em *Psidium guajava*, Yamamoto *et al.* (2010) observou que o AIB via talco possibilita um maior comprimento de raiz resultando em enraizamento satisfatórios, além de proporcionar menos risco de toxidez maior praticidade e menor custo na aplicação.

Embora tenha ocorrido diferença significativa, os valores médios de enraizamento dentro de cada um dos fatores (substrato e concentração de AIB) são considerados baixos, sendo a média geral de estacas enraizadas de 11,7% para 75,6% de estacas vivas. Esse baixo desempenho pode ter relação com a variação das condições ambientais ocorrida no viveiro durante a condução do E1, onde a amplitude térmica média foi de 13,4°C e a umidade relativa do ar mínima registrada chegou aos 40% nos meses de outubro e novembro (Figura 7).

A temperatura está diretamente ligada ao metabolismo das estacas (Rasmussen *et al.*, 2009) e a umidade do ambiente tem a função de manter a turgidez dos tecidos até a formação das raízes (Xavier *et al.*, 2013). As grandes oscilações de temperatura e os baixos valores de umidade podem ter interferido na síntese de substâncias promotoras de enraizamento e/ou provocado desidratação do material vegetal. Aliado ainda a significativas diferenças entre blocos para a porcentagem de enraizamento ($p = 0,0467$) e comprimento da maior raiz ($p = 0,0220$), tal situação favoreceu a alta variabilidade dos dados.

No experimento 2, o melhor resultado das estacas retiradas do rebroto da cepa em quase todas as variáveis, seguido das estacas da posição basal dos ramos (Tabela 3), pode estar ligado ao gradiente de juvenilidade. Os brotos estão mais próximos da base da árvore, seguida da posição basal do ramo, tornando-os nessa ordem, mais aptos a diferenciação

celular (Hartmann *et al.*, 2011). Bhardwai e Mishra (2005) atribuíram a melhor eficiência de propágulos da parte inferior de brotos de *Ulmus villosa* em relação à parte superior, às diferenças no nível de reservas.

Neste estudo, o tipo de estaca que teve os maiores valores de brotação, calo e, apesar de não diferir estatisticamente, de enraizamento, foi o rebroto que também possuiu maior concentração média de amido (54,4 mg g⁻¹ de MS). Já para carboidratos solúveis, foi o de menor teor (55,4 mg g⁻¹ de MS) (Tabela 4), correspondendo também com a posição de menor sobrevivência. O fato dos carboidratos solúveis serem uma fonte de energia rápida e o aumento da temperatura acelerar a respiração demandando mais energia, pode ter levado ao consumo acelerado da reserva das estacas (Rasmussen *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2012) antes que o amido fosse quebrado em moléculas menores aptas para o consumo. A possível falta de energia livre para suprir a demanda metabólica pode justificar a maior mortalidade das estacas desse tipo.

Em geral, as concentrações de amido correlacionaram positivamente com a porcentagem de estacas com brotos e as concentrações de carboidratos solúveis, com a porcentagem de estacas vivas (correlações de 64,7% e 57,9% respectivamente). Oliveira *et al.* (2012), estudando o teor de carboidrato durante o enraizamento do mirtilheiro, observou que o período durante a emissão de brotos e raízes está relacionado com um maior consumo das reservas. Os mesmos autores explicam que há uma mobilização das reservas para as gemas em desenvolvimento, que atuam como dreno. Possivelmente a relação das reservas com o enraizamento não foram aqui percebidos devido à baixa porcentagem de enraizamento que proporcionou um número pequeno de amostras para que a relação pudesse ser notada.

Mesmo atuando como um dreno, a correlação da emissão de brotos foi positiva em relação ao enraizamento, revelando que um não interferiu na emissão do outro. As auxinas endógenas e cofatores do enraizamento são produzidas nas gemas e partes novas da planta (Souza *et al.*, 2007; Hartmann *et al.*, 2011), podendo o broto em desenvolvimento ter fornecido essas substâncias favorecendo a emissão da raiz a tal ponto que a competição por carboidrato não foi expressiva.

O baixo percentual de enraizamento (7,6%) e elevada brotações das estacas (23,9%) na casa de vegetação (Tabela 3), caracterizam o efeito exercido pela elevada umidade do ar e da temperatura. As condições do ambiente podem ter promovido a quebra de dormência das gemas, estimulando a brotação. A menor temperatura do substrato em

relação ao ar, que proporciona diferença térmica entre base e ápice da estaca, pode ter aumentado a transpiração da parte aérea resultando em uma maior atividade metabólica, o que causa maior fluxo de substâncias nessa direção, tornando-o dreno preferencial (Oliveira *et al.*, 2012). Com isso pode ter ocorrido o desbalanço hormonal na relação citocinina/auxina favorece o estímulo de brotos (Goular *et al.*, 2014). Além do mais, neste experimento não foi utilizado regulador de crescimento que poderia vir a reequilibrar

As variações ambientais e as respostas da *A. roaeodora* aqui apresentados evidenciam a necessidade de se estabelecer o microclima ideal para o seu enraizamento. Dias *et al.* (2012) já afirmam que para a propagação ser viável para espécies nativas florestais, os sistemas de condução e manejo do ambiente de propagação é um dos temas que deve ser explorado em pesquisas. Estudos testando temperatura, luminosidade, umidade do ar e umidade do substrato devem ser realizados com o pau-rosa para determinar as técnicas de manejo do ambiente de propagação.

Análise histológica

O processo de formação da raiz aqui observado consistiu na formação de um tecido caloso onde se observou vários centros vasculares de diversos tamanhos, com traqueídes no centro, alguns dos quais se alongavam em direção a extremidade do calo caracterizando o primórdio radicular. Rasmussen *et al.* (2009) atribuem a origem da raiz ao calo e sugerem que a formação dos traqueídes é crucial para haver a formação do primórdio, já que eles não encontraram essa formação em estacas calosas não enraizadas. Porém, no pau-rosa, os traqueídes foram encontrados em indivíduos calosos sem raiz e raiz encontradas em indivíduos sem evidência de calos.

Para a maioria das espécies lenhosas, tidas como de difícil enraizamento, a formação de sua raiz se dá de forma indireta, derivada de calos, enquanto as de fácil enraizamento tem a raiz originada de forma direta, na maioria das vezes, na região do câmbio vascular (Hartmann *et al.*, 2011). Os resultado observados para o pau-rosa demonstram que a formação da raiz não depende do calo, corroborando com o observado por Sampaio *et al.* (1989), pois a formação da raiz partiu das células parenquimáticas formadas no xilema como resultado da divisão do cambio vascular. De maneira geral observou-se que o calo englobou essas células as quais foram rodeadas por células meristemáticas. Depois de um tempo, só se encontravam os núcleos vasculares, do qual

acredita-se, em conformidade com Rasmussen *et al.* (2009), que possa derivar primórdios radiculares.

Apesar de não originar a raiz, o calo favoreceu o enraizamento, uma vez que promoveu o desprendimento e/ou rompimento da casca na região do câmbio, o que elimina o esclerenquima e facilita a emissão da raiz. Existem divergências quanto ao tecido esclerenquimático ser um fator limitante ou não ao enraizamento (Davies e Hartmann, 1988). No entanto, um estudo com estacas lenhosas em espécies florestais nativas relacionou a proporção do tecido esclerenquimático, presente em propágulos de maior diâmetro, com a porcentagem e qualidade do enraizamento, mesmo os esclerenquimas sendo não contínuos (Santos *et al.*, 2011). No mesmo estudo, os autores ainda relacionaram a dificuldade em se cortar as estaca com a ausência de enraizamento. Medrado *et al.*(1995), estudando à nível histológico em seringueira as alterações provocadas pelas técnicas usadas para transpor barreiras anatômica (estiolamento e estrangulamento), concluiu que o estrangulamento induziu uma maior produção de parênquima no floema, resultando no rompimento da barreira.

Acredita-se que o esclerenquima não seja o único fator que dificulta o enraizamento, mas soma-se a fatores bioquímicos e fisiológicos que podem estar atuando. Os grãos de amido não foram encontrados além dos sete dias do estaqueamento, possivelmente porque o amido foi quebrado para suprir a necessidade energética que demanda o desenvolvimento de novas células (Oliveira *et al.*, 2012). A visualização de compostos fenólicos somente após os 45 dias do plantio coincide com a formação da massa calosa de mucilagens e pectinas. Dentre esses compostos existem muitos que atuam como inibidores do processo do enraizamento, porém outros são cofatores essenciais às funções fisiológicas, atuando como indutores e protetores da auxina endógena (Hartman *et al.*, 2011). As primeiras visualizações podem indicar o início do estímulo à formação de primórdios radiculares (Souza e Pereira, 2007).

De um modo geral, houve uma alta variabilidade dos dados nos experimentos aqui avaliados, principalmente no que diz respeito ao enraizamento das estacas. Houve também uma baixa taxa de enraizamento que pode ter sido devido: a variabilidade genética que, tanto no nível de espécie (Santos *et al.*, 2011) quanto de indivíduo (Brondani *et al.*, 2009; Cunha *et al.*, 2009), determina a predisposição das células a se diferenciarem *de novo* (Goulart *et al.*, 2014); a produção de substâncias bioquímicas inibidoras do enraizamento (Zuffellato-Ribas e Rodrigues, 2001); as condições ambientais não adequadas (Dias *et al.*,

2012); o anel de esclerênquima, que pode funcionar como barreira mecânica a emissão da raiz (Medrado *et al*, 1995); e a possibilidade do rejuvenescimento não ter atingido o grau adequado (Wendling e Xavier, 2001).

Os resultados obtidos possibilitaram a produção de mudas de pau-rosa via propagação por estacas, tratadas com 3,0 mg kg⁻¹ de AIB na forma de pó, tendo a vermiculita como substrato e propágulos coletados de rebrotos emitidos da cepa. No entanto, mais estudos são necessários para adequar as condições ambientais, romper a barreira física de esclerênquima, verificar a existência de barreira bioquímica, selecionar indivíduos geneticamente mais aptos ao enraizamento, enfim, tornar a produção de mudas por estacas mais viável, conciliando a produção e conservação da espécie.

7. CONCLUSÃO

A partir das condições experimentais estabelecidas no presente trabalho é possível concluir que:

- A vermiculita foi o substrato que proporcionou a melhor condição para o enraizamento adventício de estacas de pau-rosa.
- O uso do regulador de crescimento AIB a 3,0 mg kg⁻¹ veiculado na forma de pó proporcionou maior porcentagem de enraizamento.
- Propágulo retirado do rebroto de cepa de pau-rosa apresentaram melhor enraizamento comparado aos demais tipos de estaca.
- A raiz da *A. rosaeodora* surge do parênquima do xilema formado devido à atividade cambial. O calo formado também a partir do câmbio auxilia na emissão da raiz, rompendo o anel de esclerênquima presente na espécie.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Muitas pesquisas ainda tem que ser realizadas até se chegar a um protocolo para o enraizamento de estacas do pau-rosa. Por hora, sugere-se que estudos sejam aprofundados para determinar o microclima do ambiente e a umidade ideal para o substrato; testar metodologias de preparo de estacas que possam vencer a barreira anatômica; verificar a limitação de cofatores endógenos, inibidores e promotores do processo de enraizamento adventício.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agulló-Antón, M. Á., Sánchez-Bravo, J., Acosta, M., & Druege, U. 2011. Auxins or sugars: what makes the difference in the adventitious rooting of stored carnation cuttings?. *Journal of plant growth regulation*, 30(1), 100-113.
- Alencar, J.C.; Fernandes, N. P. 1978. Desenvolvimento de árvores nativas em ensaios de espécies, Pau-rosa (*Aniba duckei* Kosterm.). *Acta Amazonica*, 8 (4): 523-541.
- Alfenas, A. C.; Zauza, E. A.; Mafia, R. G.; De Assis, T. F. 2004. Clonagem e doenças do eucalipto.
- Bastos, D. C.; Martins, A. B. G.; Scaloppi Junior, E. J.; Sarzi, I.; Fatinansi, J. C. 2004. 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*, 26 (2): 284-286.
- Baul, T. K.; Hossain, M. M.; Mezbahuddin, M.; Mohiuddin, M. 2011. Vegetative propagation of *Litsea monopetala*, a wild tropical medicinal plant: Effects of indole-3-butyric acid (IBA) on stem cuttings. *Journal of Forestry Research*, 22(3): 409–416.
- Bhardwaj, D. R., & Mishra, V. K. 2005. Vegetative propagation of *Ulmus villosa*: effects of plant growth regulators, collection time, type of donor and position of shoot on adventitious root formation in stem cuttings. *New Forests*, 29(2), 105-116.
- Bitencourt, J.; Zuffellato-Ribas, K. C.; Wendling, I.; Koehler, H. S. 2009. Enraizamento de estacas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill.) provenientes de brotações rejuvenescidas. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, 11 (3): 277-28.
- Carvalho, J. O. P. 1983. Abundância, frequência e grau de agregação de Pau-rosa (*Aniba duckei* Kostermans) na Floresta Nacional do Tapajós. Belém: Embrapa-CPATU, *Boletim de Pesquisa*, 53. 18p.
- Cavusoglu, A.; Sulusoglu, M. 2014. Effects of indole-3-butyric acid (IBA) and 1-naphthaleneacetic acid (NAA) on rooting of female and male *Laurus nobilis* L. cuttings. *International Journal of Biosciences (IJB)*, 4(11):206-216.
- CITES - Comércio Internacional de Espécie da Flora e Fauna Selvagens Ameaçadas de Extinção. 2010. Regulamento (UE) n.º 709/2010 da Comissão, de 22 de Julho de 2010, que altera o Regulamento (CE) n.º 338/97 do Conselho relativo à protecção de espécies da fauna e da flora selvagens através do controlo do seu comércio. *Jornal Oficial da União Europeia*, L 212, p. 1-59.
- CNCFlora - Centro Nacional de Conservação da Flora. *Aniba rosaeodora* Ducke – Lauraceae. *Lista Vermelha*. Disponível em: <http://cncflora.jbrj.gov.br> Acessado em: 20/11/2014
- Cunha, A. C. M. C. M., Paiva, H. N. D., Leite, H. G., Barros, N. F. D., & Leite, F. P. 2009. Relações entre variáveis climáticas com produção e enraizamento de miniestacas de eucalipto. *Revista Árvore*.

- Davies Jr, F. T., & Hartmann, H. T. (1987, September). The physiological basis of adventitious root formation. In *International Symposium on Vegetative Propagation of Woody Species 227* (pp. 113-120).
- Dias, P. C.; Oliveira, L. S. De; Xavier, A.; Wendling, I. 2012. Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. *Pesquisa Florestal Brasileira*, Colombo, 32 (72): 453-462.
- Ducke, A. 1938. Lauraceas aromáticas do Amazonas. *Reunião Sul Americana de Botânica* 3. p. 55-74.
- Embrapa Amazônia Ocidental. Dados de climatologia da cidade de Maués durante o ano de 2015. Dados cedido em 2016.
- Feder, N., & O'Brien, T. P. 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. *American journal of Botany*, 123-142.
- Ferrari, M. P.; Grossi, F.; Wendling, I. 2004. *Propagação vegetativa de espécies florestais*. Colombo: Embrapa Florestas. 22 p.
- Gomes, J. M., Couto, L., Leite, H. G., Xavier, A., & Garcia, S. L. R.. 2002. Parâmetros morfológicos na avaliação da qualidade de mudas de *Eucalyptus grandis*. *Revista Árvore*, 26 (6), 655-664.
- Goulart, P. B., Xavier, A., & Otoni, W. C. 2014. Morfoanatomia da rizogênese adventícia em miniestacas de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*. *Ciência Florestal*, 24(3), 521-532.
- Hartmann, H.T.; Kester, D.E.; Davies Júnior, F.T.; Geneve, R.L. 2011. *Plant propagation: principles and practices*. 8 ed. New York, Englewood Clippis, 880p.
- Hernández, W.; Xavier, A.; de Paiva, H. N.; Wendling, I. 2012. Propagação vegetativa do pau-jacaré (*Piptadenia gonoacantha* (Mart.) Macbr.) por estaquia. *Revista Árvore*, Viçosa, 36(5): 813-823.
- Hernández, W.; Xavier, A.; Paiva, H. N. de; Wendling, I. 2013. Propagação vegetativa do jequitibá-rosa (*Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze) por estaquia. *Revista Árvore*, 37 (5): 955-967.
- Higashi, E. N.; Silveira, R. L. V. de A.; Gonçalves, A. N. 2000. Propagação vegetativa de *Eucalyptus*: princípios básicos e a sua evolução no Brasil. Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, *Circular técnica IPEF* 192. 12p.
- Homma, A. K. O. 2005. O extrativismo do óleo essencial de pau-rosa na Amazônia. XLIII Congresso aa Sober “Instituições, Eficiência, Gestão e Contratos no Sistema Agroindustrial”.
- Ibama - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. 1992. Portaria IBAMA Nº 37-N, de 3 de abril de 1992. Brasília.
- IUCN - Red List of Threatened Species. Version. 2014. Varty, N. 1998. *Aniba rosaeodora*. Disponível em: www.iucnredlist.org Acessado em: 27/09/2014.

- Jardim, L. S., Sampaio, P. D. T. B., COSTA, S. de S.; Blair, C. de Q.; Gonçalves, H. L. M. B. 2010. Efeito de diferentes reguladores de crescimento na regeneração *in vitro* de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke). *Acta Amazonica*, 40(2): 275-280.
- Johansen, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. New York: McGraw-Hill, 523 p.
- Kottek, M., Grieser, J., Beck, C., Rudolf, B., & Rubel, F. 2006. World map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorologische Zeitschrift*, 15(3), 259-263.
- Krainovic. P.M. 2011. *Plantios de Pau-rosa (Aniba rosaeodora ducke) em áreas com histórico de degradação por atividades agrícolas e pecuárias*. Dissertação de mestrado. Instituto Nacional de pesquisas da Amazônia. 122 p.
- Ky-Dembele, C.; Tigabu, M.; Bayala, J.; Savadogo, P.; Boussim, I. J.; Odén, P. C. 2011. Clonal Propagation of *Khaya senegalensis*: The Effects of Stem Length, Leaf Area, Auxins, Smoke Solution, and Stockplant Age. *International Journal of Forestry Research*, 2011.
- Leandro, R. C.; YuYama, K. 2008. Enraizamento de estacas de castanha-de-cutia com uso de ácido indolbutírico. *Acta Amazonica*, 38 (4): 421-430.
- Leite, A. M. C.; Quisen, R. C.; Sampaio, P. T. B. 2001. Pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) Lauraceae): informações sobre o sistema de plantio e o manejo sustentável da espécie. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, *Documentos 13*. 20 p.
- Leite, A. M. C.; Sampaio, P. D. T. B.; Barbosa, A. P.; Quisen, R. C. 1999. Diretrizes para o resgate e conservação da variabilidade genética de espécies Amazônicas I–Pau-rosa. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, *Documentos 6*. 43 p.
- Magalhães, L. M. S. De; Alencar, J. C. 1979. Fenologia do pau-rosa (*Aniba dukei* Kostermans), Lauraceae, em floresta primária na Amazônia Centaral. *Acta Amazonica*, 9 (2): 227-232.
- Medrado, M. J. S., Apezatto-da-Glória, B., & Costa, J. D. (1995). Alterações anatômicas em estacas de seringueira (*Hevea brasiliensis* clone RRIM 600) em resposta a diferentes técnicas de indução ao enraizamento. *Scientia Agricola*, 52(1).
- Melo, L. A. de; Davide, A. C.; Teixeira, L. A. F. 2012. Metodologia para resgate de matrizes e enraizamento de estacas de *Eremanthus erythropappus*. *Cerne*, 18 (4), 631-638.
- Mendonça, V., Costa, F. C., Curi, P. N., Moura, P. H. A., & Tadeu, M. H. 2010. Substratos no enraizamento de estacas de amoreira (*Morus alba* L.). *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 5(3).
- Menezes, A. 2006. *Vegetative propagation of three Amazon species: Rosewood (Aniba rosaeodora Ducke), Copaiba (Copaifera multijuga Hayne) and Breu (Protium apiculatum Swartz)*. Dissertação de mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonas/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 83p.
- Negrelle, R.R.B.; Doni, M.E. 2001. Efeito da maturidade dos ramos na formação de mudas de guaco por meio de estaquia. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 19 (3): 219-222.

- Ohashi, S. T.; Rosa, L. dos S. 2004. Pau-rosa – *Aniba rosaeodora* Ducke. *Informativo Técnico Rede de Sementes da Amazônia*, (4). 2 p.
- Ohashi, S. T.; Rosa, L. dos S.; Mekdece, F. S.. 2004. Influência do diâmetro e da altura de corte das cepas na brotação de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* DUCKE). *Revista Ciências Agrárias*, Belém, 41: 137-144.
- Oliveira, M. C.; Ribeiro, J. F. 2013. Enraizamento de estacas de *Euplassa inaequalis* (Pohl) Engl. de mata de galeria em diferentes estações do ano. *Bioscience Journal*, 29(4).
- Oliveira, R. J. P. D., Bianchi, V. J., Aires, R. F., & Campos, Â. D. 2012. Teores de carboidratos em estacas lenhosas de mirtilheiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 34(4), 1199-1207. Santos *et al.*, 2011
- Paiva, H. N. de; Gomes, J. M. 2005. Propagação vegetativa de espécies florestais. Viçosa: Editora UFV, *Caderno didático* 83. 46p.
- Passos, L. P. 1996. *Métodos analíticos e laboratoriais em fisiologia vegetal*. Embrapa. Cap. 10. Carboidratos – Análise quantitativa 53-64p.
- Rasmussen, A., Smith, T. E., & Hunt, M. A. 2009. Cellular stages of root formation, root system quality and survival of *Pinus elliottii* var. *elliottii* × *P. caribaea* var. *hondurensis* cuttings in different temperature environments. *New Forests*, 38(3), 285-294.
- Salvador, T. D. L., Salvador, T. D. L., Lemos, E. E. P. D., Barros, P. G., & Campos, R. D. S. 2014. Rooting cuttings of sugar apple (*Annona squamosa* L.) with indolebutyric acid. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36 (SPE1), 310-314.
- Sampaio, P. D. T. B.; Costa, S. 2010. Métodos de Propagação Vegetativa do Pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke): Estacas e mini-estacas. *III Reunião Científica da Rede CTPetro Amazônia – Manaus*, 4-5/11/2010
- Sampaio, P. de T. B.; Siqueira, J. A. S. D.; Costa, S.; Bruno, F. M. S. 2010. Propagação vegetativa por miniestacas de preciosa (*Aniba canellila* (H. B.K) MEZ). *Acta Amazonica*, 40 (4): 687-692.
- Sampaio, P. T. B.; Noda, H.; Parente, R. 1989. Enraizamento de estacas de material juvenil de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke - Lauraceae). *Acta Amazônica*, 19 (1): 391-400.
- Sampaio, P.T.B.; Barbosa, A.P.; Vieira, G.; Spironello, W.R.; Bruno, F.M.S. 2005. Biomassa da rebrota de copas de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) em plantios sob sombra parcial em floresta primária. *Acta Amazonica*, 35 (4): 491-494.
- Sampaio, P.T.B.; Ferraz, I.D.K.; Camargo, J.L.C. 2003. Pau-rosa - *Aniba rosaeodora* Ducke – Lauraceae. *Manual de sementes da Amazônia*, (3). 7 p.
- Sampaio, P.T.B.; Santos, M.C.dos; Vieira, G.; Spironello, W.; Useche, F.L.; Bruno, F.M.S. 2007. Avaliação da rebrota da copa das árvores de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) em sistema de podas sucessivas. *Acta Amazonica*, 37 (1): 55-60.

- Silva, F. V. C.; Castro, A. M.; Chagas, E. A.; Pessoni, L. A. 2009. Propagação vegetativa de camu-camu por estaquia: efeito de fitorreguladores e substratos. *Revista Agro@mbiente On-line*, 3 (2): 92-98.
- Souza, A. V.; Pereira, A. 2007. Enraizamento de plantas cultivadas in vitro. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 103-116.
- Souza, K.S.; Chaar, J.S.; Oliveira, K.M.T.; Gomes, E.O.; Portela, C.N.; Pohlit, A.M., Quignard, E.L.J.; Nunomura, S.M.; Tadei, W.P.; Mouchrek Filho, V.E.; Silva, D.D.; Galhiane, M.S.; Chierice, G.O. 2007. Atividade biológica de extratos, hidrolatos e óleos voláteis de pau-rosa (*Aniba duckei* Kostermans) e quantificação do linalol no hidrolato de folhas. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, 9 (2): 1-7.
- Spironello, W. R.; Sampaio, P. de T. B.; Ronchi-Teles, B. 2004. Produção e predação de frutos de *Aniba rosaeodora* var. *Amazonica* Ducke (Lauraceae) em sistema de plantio sob floresta de terra firme na Amazônia Central. *Acta Botanica Brasilica*, 18 (4): 801-807.
- Stuepp, C. A., Wendling, I., Koehler, H. S., & Zuffellato-Ribas, K. C. (2015). Estaquia de árvores adultas de *Paulownia fortunei* var. mikado a partir de brotações epicórmicas de decepa. *Ciência Florestal*, 25(3), 667-677.
- SUDAM - Superintendência do Desenvolvimento da Amazônia. 1972. Extrativismo do Pau-rosa (*Aniba duckei* Koster., *Aniba rosaeodora* Ducke). Aspectos socioeconômicos: A silvicultura da espécie. *Documentos da Amazônia*, 3 (1/4): 5-55.
- Tofanelli, M. B. D.; Rodrigues, J. D.; Ono, E. O. 2003. Enraizamento de estacas lenhosas de pessegueiro cv. Okinawa em diferentes diâmetros de ramos, substratos e recipientes. *Ciência Rural*, 33(03):437-442.
- Wendling, I., Guastala, D.; Dedecek, R. 2007. Características físicas e químicas de substratos para produção de mudas de *Ilex paraguariensis* St. Hil. *Revista Árvore*, 31(02): 209-220.
- Wendling, I.; Brooks, P. R.; Trueman, S. J. 2015. Topophysis in *Corymbia torelliana* × *C. citriodora* seedlings: adventitious rooting capacity, stem anatomy, and auxin and abscisic acid concentrations. *New forests*, 46(1):107-120.
- Wendling, I.; Trueman, S. J.; Xavier, A. 2014a. Maturation and related aspects in clonal forestry – Part I: concepts, regulation and consequences of phase change. *New Forests*, 45: 449-471.
- Wendling, I.; Trueman, S. J.; Xavier, A. 2014b. Maturation and related aspects in clonal forestry – Part II: reinvigoration, rejuvenation and juvenility maintenance. *New Forests*, 45(4): 473-486.
- Wendling, I.; Xavier, A. 2001. Gradiente de maturação e rejuvenescimento aplicado em espécies florestais. *Floresta e Ambiente*, 8 (1):187-194.
- Xavier, A.; Santos, G. D.; Wendling, I.; Oliveira, M. D. 2003. Propagação vegetativa de cedro-rosa por miniestaquia. *Revista Árvore*, 27 (2): 139-143.
- Yamamoto, L. Y.; Borges, R. D. S.; Sorace, M.; Rachid, B. F.; Ruas, J. M. F.; Sato, O.; Assis, A. M.; Roberto, S. R. 2010. Enraizamento de estacas de *Psidium guajava* L. ‘Século XXI’ tratadas com ácido indolbutírico veiculado em talco e em álcool. *Ciência Rural*, 40(5).

Zuffellato-Ribas, K. C.; Rodrigues, J. D. 2001. *Estaquia: uma abordagem dos principais aspectos fisiológicos*. Curitiba, 2001.

APÊNDICE A – Quadros resumo das análises de variância (ANOVA)

Tabela 5: Quadro resumo da análise de variância pelo Teste F para porcentagem de sobrevivência (PEV), porcentagem de enraizamento (PER), número de raiz por estaca (NR) e comprimento da maior raiz (CMR) em estacas de rebrota da cepa de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) adulto (experimento 1), testando substrato e concentrações do ácido indolbutírico (AIB) em pó

Fontes de variação	GL	Quadrado médio			
		PEV	PER	NR	CMR
Bloco	3	0,052 ^{ns}	0,103*	0,569 ^{ns}	13,546*
Substrato	2	0,220**	0,192**	1,003 ^{ns}	9,687 ^{ns}
AIB	3	0,0010 ^{ns}	0,119*	0,950 ^{ns}	3,020 ^{ns}
Substrato*AIB	6	0,033 ^{ns}	0,038 ^{ns}	0,430 ^{ns}	6,632 ^{ns}
Resíduo	33	0,035	0,035	0,375	3,697
Total	47				
CV (%)		18,9	99,0	101,6	125,1

* p > 0,05; ** p > 0,01; CV – coeficiente de variação; GL – grau de liberdade

Tabela 6: Quadro resumo da análise de variância pelo Teste F (quadrado médio) e Teste Kruskal-Wilis (Qui-quadrado) para porcentagem de sobrevivência (PEV), porcentagem de brotação (PEB), número de broto por estaca (NB) e comprimento do maior broto (CMB), porcentagem de calo (PEC), porcentagem de enraizamento (PER), número de raiz por estaca (NR) e comprimento da maior raiz (CMR) em estacas de rebrota da cepa de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) adulto (experimento 2), testando tipo de estaca

Fontes de variação	GL	Quadrado médio			Qui-quadrado				
		PEV	PEB	CMB	NB	PEC	PER	NR	CMR
Tipo de estaca	3	0,048 ^{ns}	0,132**	0,380 ^{ns}	4,146 ^{ns}	10,795*	5,894 ^{ns}	5,894 ^{ns}	5,704 ^{ns}
Resíduo	12	0,032	0,009	0,236	-	-	-	-	-
Total	15								
CV (%)		20,6	66,8	28,0	36,7	148,2	175,7	132,5	181,9

* p > 0,05; ** p > 0,01; CV – coeficiente de variação; GL – grau de liberdade.

Tabela 7: Quadro resumo da análise de variância pelo Teste Kruskal-Wilis (Qui-quadrado) para os teores de Carboidatos Solúveis, Amido e Totais presentes em diferentes tipos de estacas da rebrota da cepa de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) adulto (experimento 2)

	Qui-quadrado	CV(%)
Carboidratos		
Solúveis	3,359	12,4
Amido	9,359*	24,2
Carboidratos Totais	6,897	11,4

* p > 0,05; ** p > 0,01; CV – coeficiente de variação.

APÊNDICE B – Boxplot das variáveis respostas para AIB e substrato

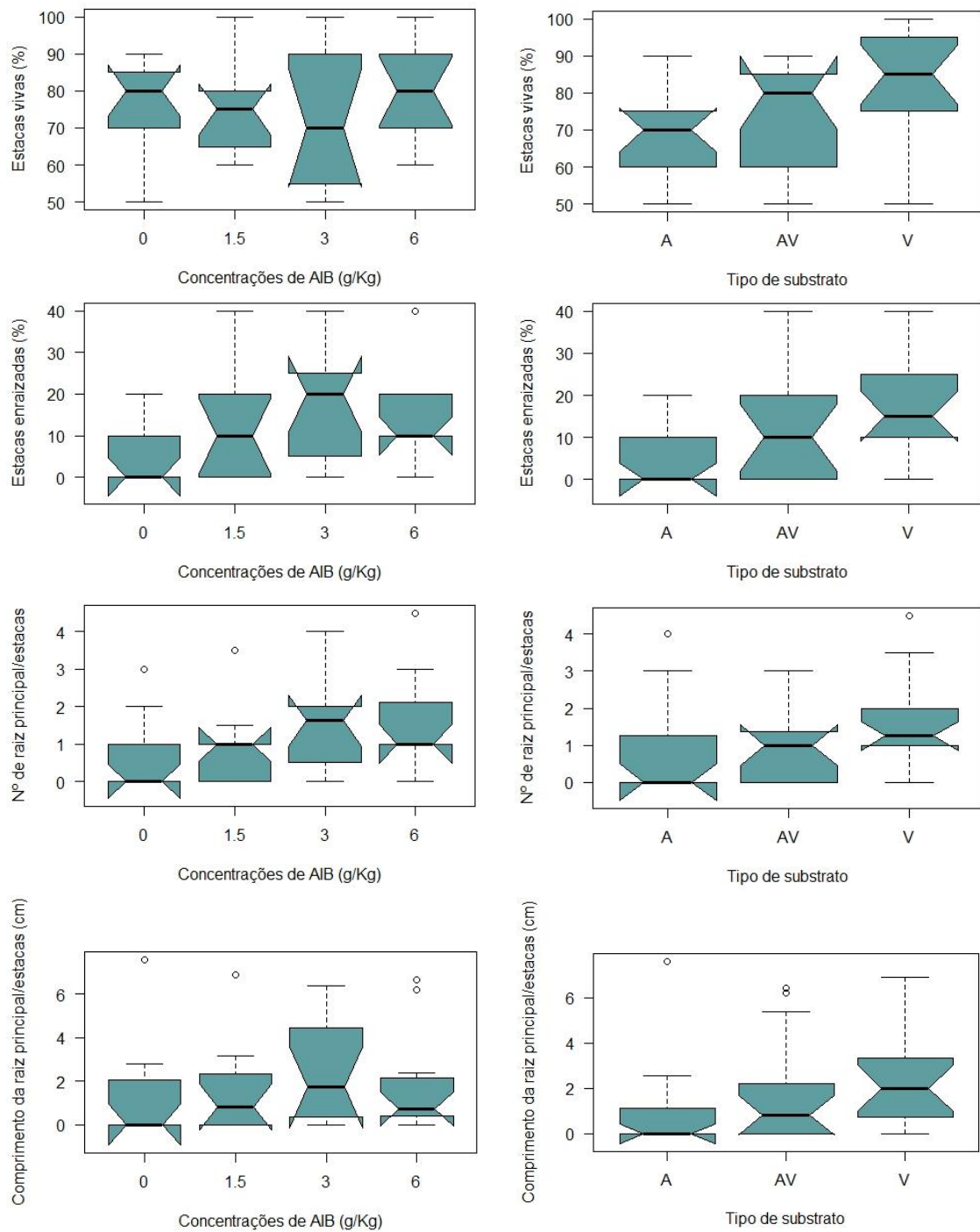


Figura 10: Boxplot das variáveis do experimento 1 em função do substrato e da concentração de AIB.

APÊNDICE C – Boxplot das variáveis respostas para tipo de estaca

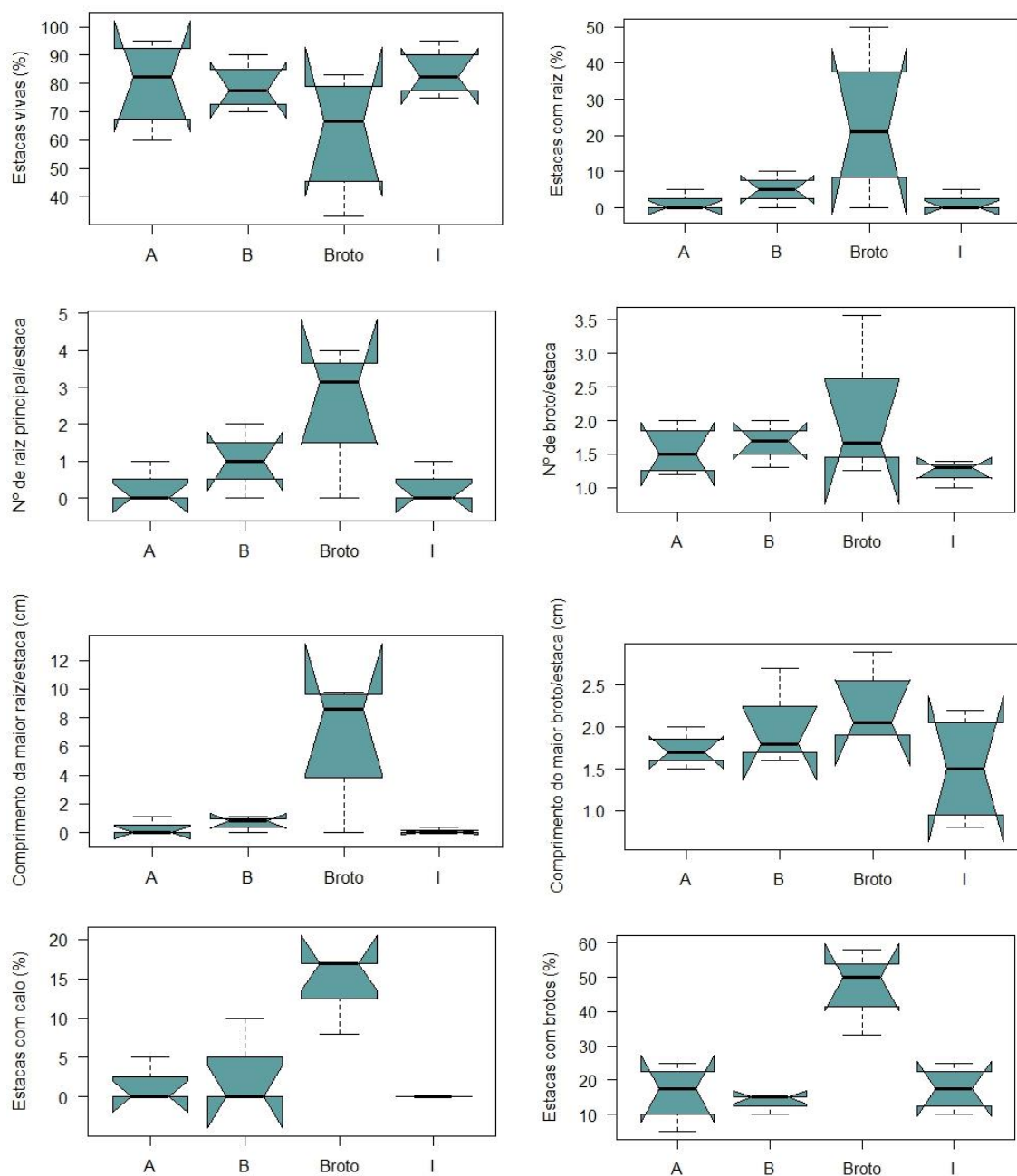
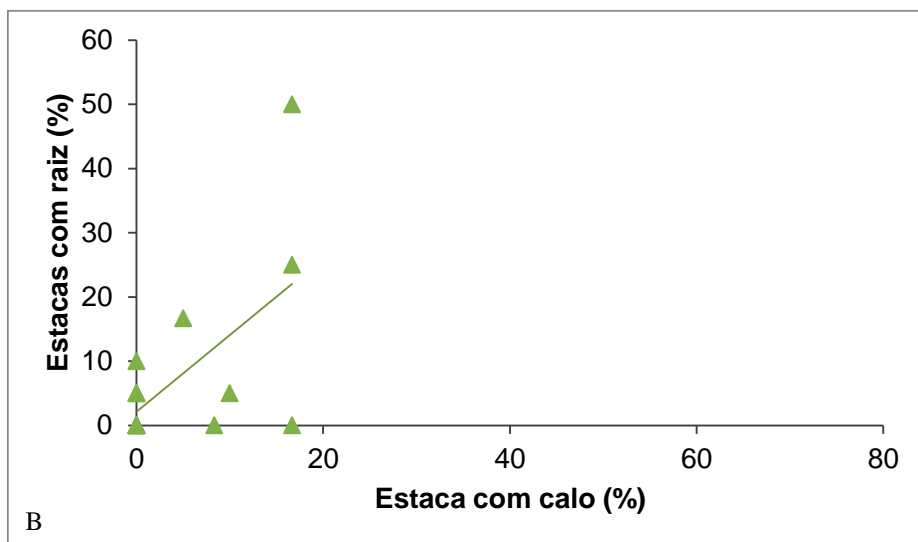
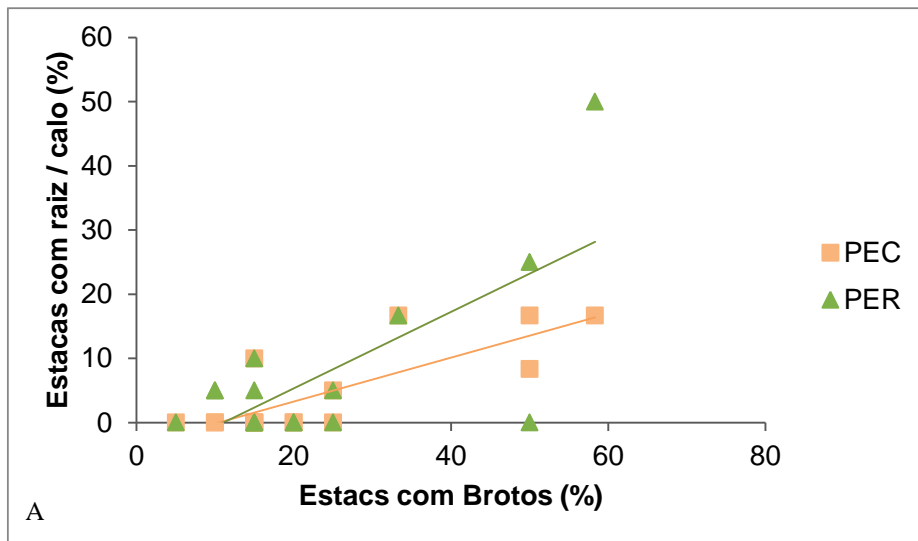


Figura 11: Boxplot das variáveis do experimento 2 em função do tipo de estaca apical (A), intermediária (I), basal (B) e direto do broto

APÊNDICE D – Gráficos de correlação de Pearson (5% significância)



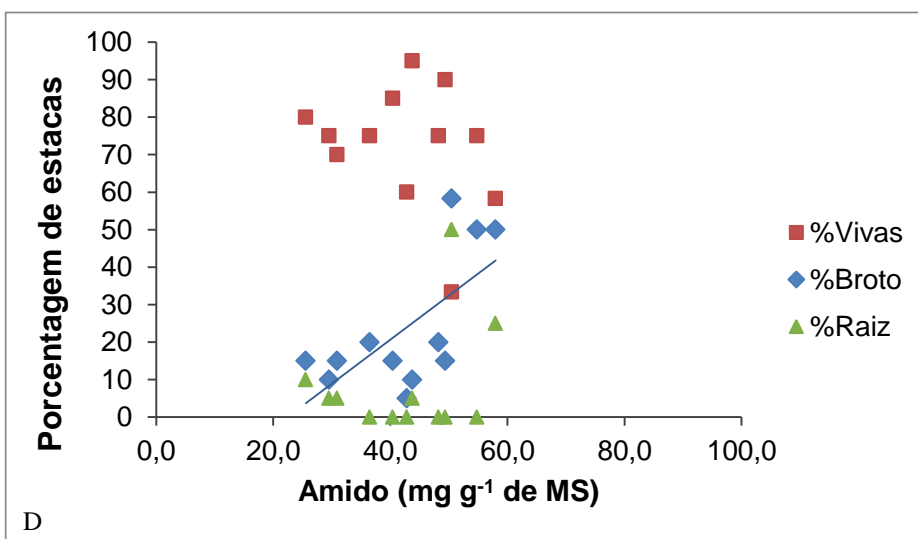
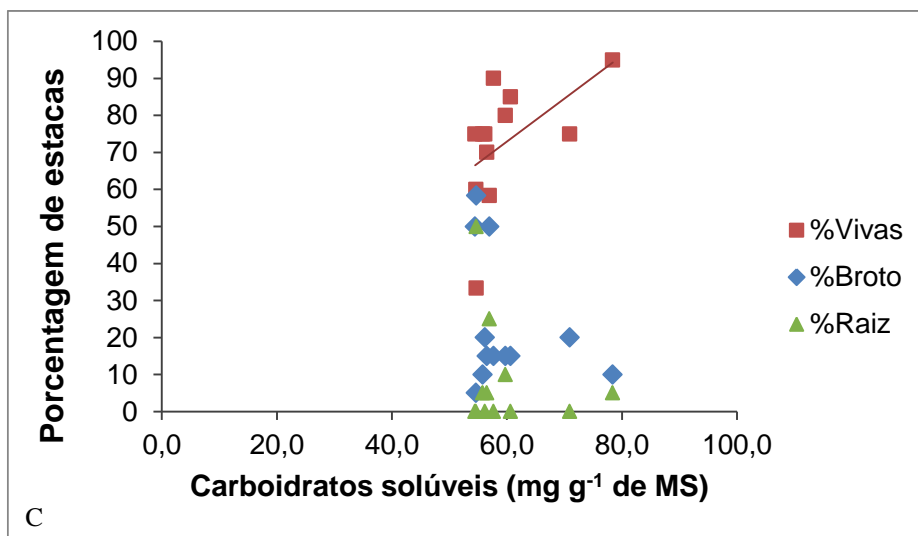


Figura 12: Correlação das estacas: A – Porcentagem de estacas com raiz/com calo em relação a estacas com broto; B – Porcentagem de estacas com raiz em relação a estacas com calo; C e D – Porcentagem de estacas vivas, com broto e com raiz em relação ao teor de carboidratos solúveis e de amido, respectivamente. As retas representa correlação significativa para a variável.