

EMPREGO DO ESTIOLAMENTO NA PROPAGAÇÃO DE PLANTAS

ETIOLATION TO CLONAL PLANT PROPAGATION

Luiz Antonio Biasi¹

- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -

RESUMO

O estiolamento tem sido utilizado com sucesso no enraizamento de diversas espécies frutíferas e ornamentais lenhosas. Os resultados geralmente são melhores combinando esta técnica com o anelamento ou aplicação de reguladores de crescimento. O estiolamento pode ser utilizado de diversas formas, em plantas à campo ou em casa de vegetação. O enraizamento pode ocorrer com os ramos ainda ligados a planta-matriz, realizando-se uma mergulhia, ou então destacados, realizando-se uma estaquia. Neste último caso, após o crescimento do ramo estiolado, ele é novamente exposto à luz, mas com um revestimento opaco em sua base, para que o resto do ramo torne-se verde, mas a base, onde ocorrerá o enraizamento, continue estiolada. O fenômeno ainda não está totalmente conhecido, mas sabe-se que o estiolamento provoca alterações anatômicas e fisiológicas nos tecidos que estão correlacionadas com o melhor enraizamento. Ocorrem reduções na lignificação e suberificação dos tecidos, aumento de tecidos parenquimáticos indiferenciados e redução na espessura das paredes celulares. Também é alterado o controle da luz sobre o metabolismo de auxinas, causando alterações no conteúdo de compostos fenólicos e na atividade do IAA-oxidase e de cofatores do enraizamento.

Palavras-chave: estiolamento, propagação vegetativa, enraizamento.

SUMMARY

Etiolation has been used successfully to improve rooting in cuttings of woody fruit-tree and ornamental species. The cuttings rooting is usually better when etiolation is used together

with ringbarking or hormone application. Etiolation can be achieved through different forms by covering the stock plants in the field or in the greenhouse. The shoots can be rooted while they are still attached to the stock plant, by stooling or they are removed like cuttings. In this case, after the etiolated shoots have elongated enough, the shading is gradually reduced and an opaque band is wrapped around the base of the new shoot, thereby retaining its etiolated condition while the rest of the shoot turns green in the light. The process is not well understood, although it is known that etiolation promotes anatomical and physiological tissue changes which are correlated with ease of rooting. The changes include decreased lignification and suberization of stem tissues, increased undifferentiated parenchyma and decreased cell wall thickness. The light control of auxin metabolism is also changed, causing changes in phenolic substances content and in the activity of IAA-oxidase and rooting cofactors.

Key words: etiolation, vegetative propagation, rooting.

INTRODUÇÃO

A dificuldade que algumas espécies ou cultivares apresentam na regeneração de raízes, por vezes inviabiliza processos relativamente simples de propagação vegetativa, como a estaquia. Diversas formas de aumentar a eficiência de enraizamento das estacas podem ser utilizadas e dentre elas, o pré-tratamento das plantas matrizes com ausência de luz,

¹Engenheiro Agrônomo, MsC, Doutorando em Fitotecnia na Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/Universidade de São Paulo, Departamento de Horticultura, Caixa Postal 9, 13400-970 Piracicaba, SP. E-mail: labiasi@carpa.ciagri.usp.br.

tem proporcionado excelentes resultados em muitas espécies frutíferas e ornamentais de difícil enraizamento. O estiolamento é uma técnica conhecida desde o início deste século e já em 1936, GARDNER descreveu um método eficiente para o enraizamento de cultivares de macieira de difícil propagação. Neste trabalho, o autor utilizou conjuntamente duas técnicas de estiolamento, o total e o localizado, procedimento que foi posteriormente adotado sendo utilizado até o presente momento, para a propagação de diversas espécies lenhosas.

As técnicas de estiolamento também foram bastante estudadas para a propagação vegetativa de porta-enxertos de abacateiro resistentes à *Phytophthora cinnamomi* e à salinidade. Nesta espécie, é fundamental a propagação clonal dos porta-enxertos, pois as sementes apresentam elevada variabilidade resultante da fecundação cruzada, mas as estacas das cultivares resistentes praticamente não enraizam, a menos que se utilize o estiolamento. O principal método para a propagação clonal de abacateiros foi criado por FROLICH (1961) e desde então, vem sendo utilizado em escala comercial por viveiristas americanos. No Brasil, BIASI & KOLLER (1993) comprovaram experimentalmente a eficiência deste método com a cultivar Ouro Verde.

MÉTODOS UTILIZADOS

O processo de estiolamento consiste no crescimento da planta inteira ou de apenas alguns ramos na ausência da luz (BASSUK & MAYNARD, 1987). Entretanto, não é necessário atingir 100% de escuridão. Um forte sombreamento, superior a 90% é suficiente (BASSUK *et al.*, 1987).

O método básico desenvolvido para espécies caducifólias perenes, consiste em excluir a planta matriz dormente da ação luminosa, pela colocação de uma barreira que impeça que a luz atinja a planta. Assim que as novas brotações estioladas atingirem comprimento suficiente para a estaca, cerca de 5 a 10cm, o sombreamento é reduzido, ao mesmo tempo que reveste-se a base das brotações com uma fita adesiva opaca. Desta forma o broto torna-se verde, mas sua base permanece estiolada. Após o crescimento de algumas folhas normais, o broto pode ser destacado da planta, a fita é retirada e a estaca é inserida no leito de enraizamento (BASSUK *et al.*, 1985). O esquema geral do estiolamento de plantas inteiras a campo pode ser observado na Figura 1.

Para o estiolamento das plantas são utilizados materiais como polietileno preto (NELSON, 1987)

ou tecido preto (MAYNARD & BASSUK, 1990). O plástico preto pode excluir cerca de 99% da luminosidade (BASSUK *et al.*, 1985), enquanto os tecidos pretos, dependendo da sua espessura e de características próprias, podem excluir de 92 a 99% (BASSUK *et al.*, 1985; MAYNARD & BASSUK, 1987).

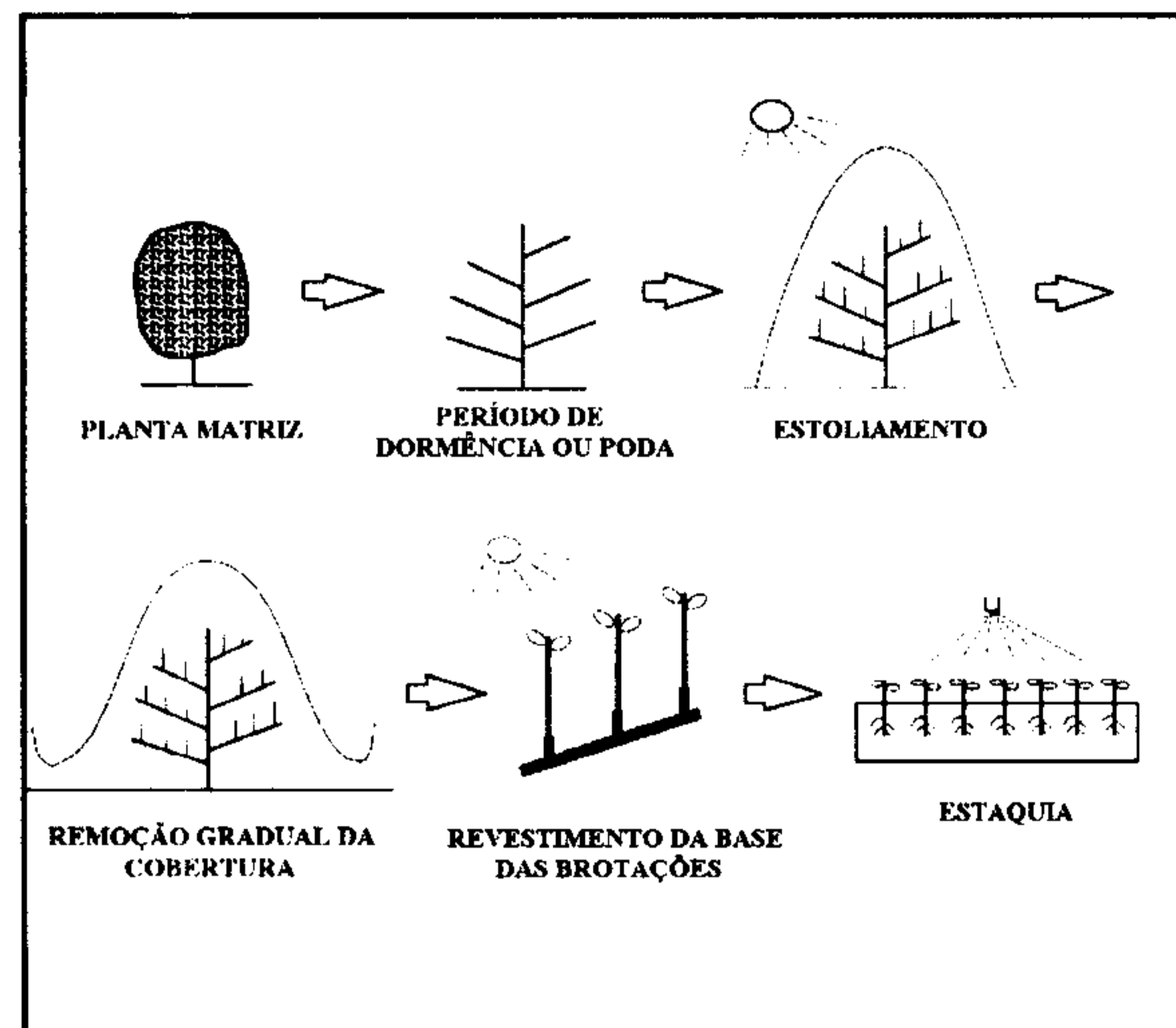


Figura 1. Esquema geral da propagação vegetativa através do estiolamento de plantas inteiras a campo.

Quando o sombreamento é produzido por estruturas em forma de tendas, inicialmente descobre-se o lado de menor insolação, até que a planta seja totalmente exposta à luz (NELSON, 1987; MAYNARD & BASSUK, 1990). O período de remoção das coberturas deve ser superior a uma semana para não causar queimaduras nos brotos estiolados tenros (BASSUK *et al.*, 1987). Estruturas totalmente fechadas podem elevar muito a temperatura interna da câmara em dias ensolarados e o excesso de umidade pode favorecer a ocorrência de fungos nos brotos (HARRISON-MURRAY, 1982), por isso devem ser feitas algumas aberturas para ventilação nos cantos ou fendas no topo do tecido ou plástico para eliminar o excesso de calor (BASSUK *et al.*, 1987).

O estiolamento também pode ser realizado com plantas em recipientes dentro de casas de vegetação (FROLICH & PLATT, 1971/72), o que eleva um pouco o custo da muda produzida, mas permite maior controle do processo e torna mais fácil sua execução (BASSUK *et al.*, 1987).

O procedimento descrito até aqui refere-se ao estiolamento total dos ramos, mas também pode ser

realizado o estiolamento localizado em apenas uma parte do ramo (DELARGY & WRIGHT, 1978). Isto é obtido através do revestimento do ramo com uma fita opaca ou papel alumínio, com largura de 5 a 7,5cm (DELARGY & WRIGHT, 1979).

O revestimento localizado dos ramos pode ser realizado em conjunto com outras técnicas, como após o estiolamento total, anelamento ou aplicação de auxinas em pó. O revestimento após o estiolamento foi descrito por GARDNER (1936) em macieiras, possibilitando um aumento de 70% no enraizamento das estacas estioladas. MAYNARD & BASSUK (1986) também obtiveram excelentes resultados no enraizamento de diversas espécies ornamentais, utilizando o estiolamento mais o revestimento da base das brotações com fita "Velcro", contendo 0,8% de AIB (ácido indolbutírico) em talco. Nas espécies *Acer griseum* (plantas com 30 anos), *Castanea mollissima* (plantas com 4 anos) e *Quercus coccinea* (plantas com 1 ano) apenas ocorreu enraizamento com o uso do estiolamento.

O método descrito por FROLICH (1961) para o abacateiro consiste no estiolamento de mudas. Um esquema detalhado do processo pode ser encontrado no trabalho de BIASI (1995). Inicialmente, plantas provenientes de sementes são enxertadas com a variedade de porta-enxerto que se deseja enraizar. Após a brotação deste enxerto apresentar bom crescimento, ela é cortada logo acima da região de enxertia. As mudas são então colocadas numa câmara escura para que os novos brotos cresçam estiolados. Quando os brotos atingirem 7,5 a 10cm de comprimento, as plantas são expostas novamente à luz e um recipiente em forma de tubo é colocado ao redor do caule, sendo preenchido com vermiculita para continuar a exclusão da luz na base das brotações. Espera-se até que os brotos possuam várias folhas maduras, então retira-se o colar de vermiculita e realiza-se a estaquia, levando as brotações para um leito de propagação com aquecimento basal. Os melhores resultados de enraizamento são obtidos mantendo-se a temperatura do ar inferior a do substrato. Assim, dentro de 6 a 8 semanas ocorrerá o enraizamento das estacas. Quando não se dispõem de um leito de enraizamento, pode-se realizar uma mergulhia, enraizando os brotos ainda ligados a própria planta, pela remoção de um anel da casca perto da sua base e colocação novamente do colar com vermiculita. Desta forma o enraizamento é rápido e abundante, conforme verificaram BIASI & KOLLER (1993) utilizando casca de arroz carbonizada como substrato, mas deve-se ter muito cuidado no momento do transplante para não danificar as frágeis raízes.

MOLL & WOOD (1980) propuseram uma forma alternativa de maior eficiência para a produção de mudas de abacateiro. Este método consiste na segmentação do eixo caulinar após o estiolamento, em estacas de aproximadamente 5cm de comprimento e com uma gema. Estas são levadas ao leito de enraizamento sob nebulização e com o substrato aquecido a 27°C. A planta enxertada pode ser recolocada na câmara de estiolamento mais 4 a 6 vezes, produzindo cerca de 15 a 25 estacas, que levam de 14 a 40 dias para enraizar, com um sucesso de 80 a 90% (Figura 2). Mas este método apenas pode ser utilizado para cultivares que não perdem suas folhas durante o estiolamento.

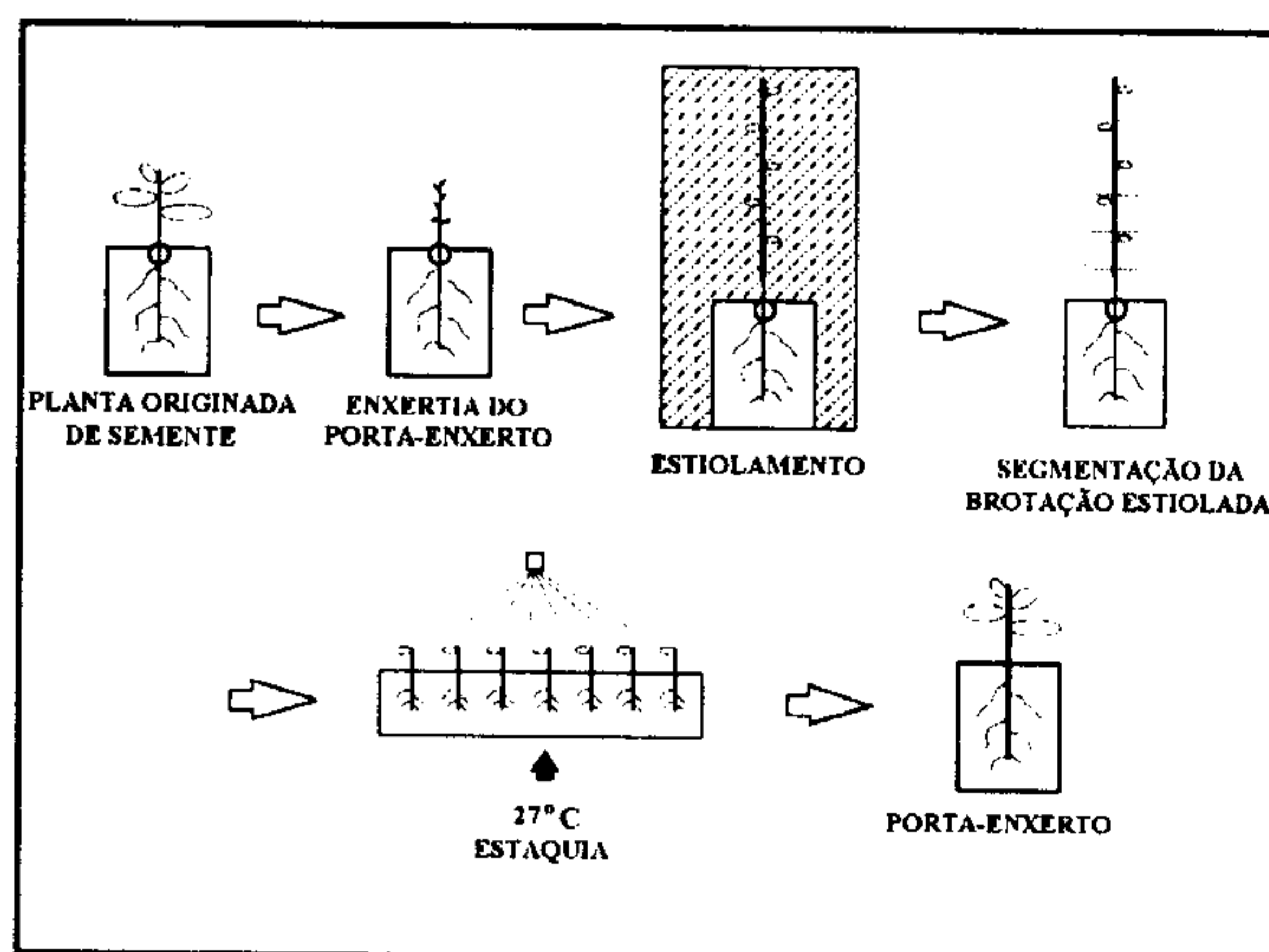


Figura 2. Esquema do método de estiolamento desenvolvido por MOLL & WOOD (1980) para a propagação vegetativa de porta-enxertos de abacateiro.

Outra forma de utilização do estiolamento para aumentar a eficiência da propagação de cultivares de difícil enraizamento, foi descrito por ERNST & HOLTHAUSEN (1978) também para o abacateiro. O método proposto envolve a colocação de estacas com 20cm de comprimento e 1,5cm de diâmetro, na posição horizontal a 5cm de profundidade dentro de um leito formado por vermiculita. As brotações provenientes destas estacas possuem sua base estiolada pelo substrato, sendo que o resto do eixo caulinar cresce normalmente na presença da luz. Quando elas atingem tamanho suficiente, o que ocorre dentro de 40 dias, é realizada a estaquia (Figura 3). Estacas da cultivar Fuerte tratadas com 0,3% de AIB apresentaram 70% de enraizamento após 50 dias.

Este método foi utilizado por MOHAMMED & SORHAINDO (1984) com aplicação adicional de reguladores de crescimento para

aumentar o rendimento do processo. A aplicação na estaca original de 100ppm de GA3 (ácido giberélico) promoveu a brotação de 93% das gemas laterais, enquanto o uso de 50ppm de BAP (6-benzilaminopurina) induziu múltiplas brotações de apenas uma gema.

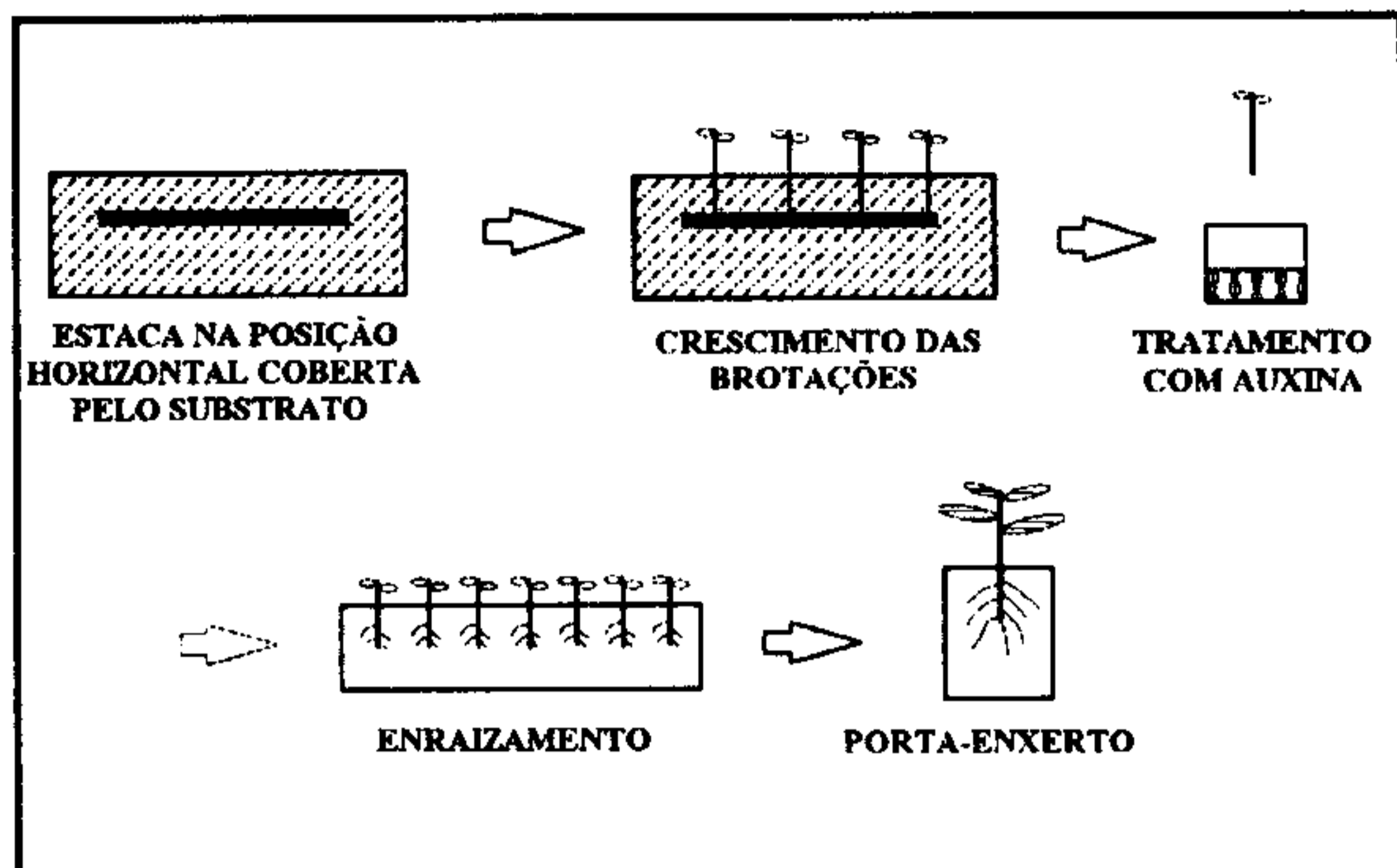


Figura 3. Esquema do método de estiolamento desenvolvido por ERNST & HOLTHAUSEN (1978) para a propagação vegetativa do abacateiro.

A eficiência de enraizamento geralmente é maior combinando o estiolamento com o anelamento ou aplicação de auxinas, conforme já verificado para o abacateiro (BARRIENTOS-PRIEGO *et al.*, 1986; MOHAMMED & SORHAINDO, 1984), jaqueira (DHUA *et al.*, 1983; MUKHERJEE & CHATTERJEE, 1978) e macieira (DELARGY & WRIGHT, 1978).

FATORES INTERNOS ENVOLVIDOS NO PROCESSO

Os efeitos morfológicos mais evidentes do estiolamento incluem a perda da clorofila, alongação dos internódios e formação de tecidos mais suculentos com menor resistência mecânica, devido a menor lignificação, suberificação e espessura das paredes celulares (MAYNARD & BASSUK, 1988).

O estiolamento atrasa a lignificação dos tecidos, sendo que em brotações de *Camphora*, ela apenas ocorreu no sexto nó, enquanto que brotos desenvolvidos em condições normais de luminosidade lignificaram a partir do terceiro nó. Desta forma, a explicação anatômica do efeito do estiolamento, inicia com a idéia que a redução das propriedades mecânicas dos tecidos são responsáveis pela facilidade de enraizamento provocada nas brotações estioladas (BASSUK & MAYNARD, 1987).

A inibição da lignificação pelas auxinas serve como um mecanismo de indução a alongação. Os compostos precursores da lignina são polimerizados por peroxidases ou outros sistemas fenólicos oxidantes. Como a formação da lignina depende de peroxidações, a auxina afeta este processo mediante seu efeito sobre a atividade e níveis de peroxidase (GALSTON & PURVES, 1960).

O estiolamento dos ramos de castanheira promoveu uma redução na diferenciação do esclerênquima, tecido de sustentação, bem como uma abundante formação de tecido parenquimático indiferenciado. O câmbio mostrou intensa atividade, sendo que grupamentos de células próximo aos mais grossos raios medulares, formaram primórdios radiculares (RINALLO *et al.*, 1987).

O estiolamento também provoca alterações fisiológicas, envolvendo o metabolismo e transporte de auxina, alterações na sensibilidade dos tecidos a auxina e alterações no conteúdo de compostos fenólicos (MAYNARD & BASSUK, 1988). Alguns autores citados por ECONOMOU & READ (1987) propuseram que o efeito inibidor da formação de raízes pela luz estaria relacionado com a inadequada síntese do AIA (ácido indolacético) ou até mesmo sua destruição, fotoinativação de elementos promotores da formação de raízes, inativação da síntese de cofatores de enraizamento ou estímulo a destruição de cofatores. KAWASE (1965) demonstrou que a degradação do AIA é maior na presença da luz, onde cerca de 80% do conteúdo é destruído após 24 horas de iluminação, enquanto apenas 56% é degradado após 48 horas no escuro.

O estiolamento também parece favorecer o enraizamento por induzir a inibição do sistema enzimático AIA-oxidase, já que em tecidos estiolados de *Ipomea purpurea*, KONISHI & GALSTON (1964) demonstraram que a presença de compostos fenólicos inibidores do AIA-oxidase foram mais abundantes. AL BARAZI & SCHWABE (1984) trabalhando com *Pistacia vera* observaram que a atividade do AIA-oxidase não foi aumentada pelo estiolamento, ao passo que a polifenol oxidase foi aumentada em 100%. Suspeita-se que esta enzima esteja envolvida na produção de um cofator responsável pelo enraizamento de estacas de macieira (BASSUK *et al.*, 1981).

Brotações de azalea cultivadas *in vitro* sob menor irradiação mostraram maior atividade de peroxidase, durante a fase de indução de raízes, e maior porcentagem de enraizamento, do que brotações provenientes de culturas mantidas com maior luminosidade. Uma alta correlação foi encontrada

entre a atividade da peroxidase e habilidade de enraizamento das brotações (ECONOMOU & READ, 1987).

Os compostos fenólicos desempenham um importante papel na síntese de lignina e suberina e no metabolismo das auxinas, já que atuam como cofatores de auxina, bem como inibidores e estimuladores do AIA-oxidase (MAYNARD & BASSUK, 1988). Isto ocorre porque os diferentes tipos de fenóis atuam de forma diferenciada sobre a atividade do AIA-oxidase. Geralmente monofenóis, como o ácido p-cumárico, atuam como cofatores do AIA-oxidase, estimulando a destruição do AIA, enquanto polifenóis, como o ácido clorogênico, floroglucinol, ácido cafeico e catecol, inibem a destruição do AIA (ZENK & MULLER, 1963). O floroglucinol tem sido utilizado para estimular o enraizamento de brotações de plantas *in vitro*. JONES & HOPGOOD (1979) verificaram que este composto promoveu o desenvolvimento de raízes em explantes do porta-enxerto de ameixeira 'Pixy'. JAMES & THURBON (1981) também observaram que este composto apresentou efeito sinérgico com auxinas no estímulo à formação de raízes em explantes de macieira.

CONCLUSÕES

As técnicas de estiolamento, ainda pouco pesquisadas no Brasil, possivelmente permitirão a obtenção de melhores resultados na propagação de espécies nativas e exóticas difíceis de enraizar, do que a simples utilização de auxinas em estacas.

Para as espécies que ainda não foram estudadas, recomenda-se testar inicialmente o estiolamento localizado com posterior estaquia, já que constitui no procedimento de mais fácil execução. Mas, se a resposta da espécie não fôr satisfatória, pode-se combinar o estiolamento com o anelamento dos ramos ou aplicação exógena de reguladores de crescimento ou então, usar a técnica do estiolamento total.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL BARAZI, A., SCHWABE, W.W. The possible involvement to polyphenol-oxidase and the auxin-oxidase system in root formation and development in cuttings of *Pistacia vera*. *The Journal of Horticultural Science*, Ashford, v. 59, p. 453-461, 1984.
- BARRIENTOS-PRIEGO, A., BORYS, M.W., BARRIENTOS-PEREZ, F. Rooting of avocado cuttings (*Persea americana* Mill.) cvs. Fuerte e Colin V-33. *California Avocado Society Yearbook*, Saticoy, v. 70, p. 157-163, 1986.
- BASSUK, N., MAYNARD, B. Stock plant etiolation. *HortScience*, Alexandria, v. 22, n. 5, p. 749-750, 1987.
- BASSUK, N.L., HUNTER, L.D., HOWARD, B.H. The apparent involvement of polyphenol oxidase and phloridizin in the production of apple rooting cofators. *The Journal of Horticultural Science*, Ashford, v. 56, p. 313-322, 1981.
- BASSUK, N., MAYNARD, B., CREEDON, J. Stockplant etiolation and banding for softwood cutting propagation: working towards commercial application. *Proceedings International Plant Propagators' Society*, Seattle, v. 36, p. 599-604, 1987.
- BASSUK, N., MYSKE, D., MAYNARD, B. Stock plant etiolation for improved rooting of cuttings. *Proceedings International Plant Propagators' Society*, Seattle, v. 35, p. 543-550, 1985.
- BIASI, L.A., KOLLER, O.C. Propagação clonal do abacateiro cv. Ouro Verde através da mergulhia de ramos estiolados. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Cruz das Almas, v. 15, n. 3, p. 95-101, 1993.
- BIASI, L.A. Propagação do abacateiro. *Agropecuária Catarinense*, Florianópolis, v. 8, n. 3, p. 29-31, 1995.
- DELARGY, J.A., WRIGHT, C.E. Root formation in cuttings of apple (cv. Bramley's Seedling) in relation to ringbarking and to etiolation. *New Phytologist*, Cambridge, v. 81, p. 117-127, 1978.
- DELARGY, J.A., WRIGHT, C.E. Root formation in cuttings of apple in relation to auxin application and to etiolation. *New Phytologist*, Cambridge, v. 82, p. 341-347, 1979.
- DHUA, R.S., SEN, S.K., BOSE, T.K. Propagation of jack fruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) by stem cuttings. *The Punjab Horticultural Journal*, Patiala, v. 23, n. 1/2, p. 84-91, 1983.
- ECONOMOU, A.S., READ, P.E. Light treatments to improve efficiency of in vitro propagation systems. *HortScience*, Alexandria, v. 22, n. 5, p. 751-754, 1987.
- ERNST, A.A., HOLTHAUSEN, L.C. New promising technique for rooting difficult-to-root avocado (*Persea americana* Mill.) cuttings. *The Citrus and Subtropical Fruit Journal*, Johannesburg, n. 532, p. 6-10, 1978.
- FROLICH, E.F. Etiolation and the rooting of cuttings. *Proceedings International Plant Propagators' Society*, Seattle, v. 11, p. 277-283, 1961.
- FROLICH, E.F., PLATT, R.G. Use of the etiolation technique in rooting avocado cuttings. *California Avocado Society Yearbook*, Saticoy, v. 55, p. 97-109, 1971/72.
- GALSTON, A.W., PURVES, W.K. The mechanism of action of auxin. *Annual Review of Plant Physiology*, Palo Alto, v. 11, p. 239-276, 1960.
- GARDNER, F.E. Etiolation as a method of rooting apple variety stem cuttings. *Proceedings American Society for Horticultural Science*, St. Joseph, v. 34, p. 323-329, 1936.
- HARRISON-MURRAY, R.S. Etiolation of stock plants for improved rooting of cuttings: I. Opportunities suggested by work with apple. *Proceedings International Plant Propagators' Society*, Seattle, v. 31, p. 386-395, 1982.

- JAMES, D.J., THURBON, I.J. Shoot and root initiation *in vitro* in the apple rootstock M.9 and the promotive effects of phloroglucinol. **The Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 56, n. 1, p. 15-20, 1981.
- JONES, O.P., HOPGOOD, M.E. The successful propagation *in vitro* of two rootstocks of Prunus: the plum rootstocks Pixy (*P. insititia*) and the cherry rootstocks F12/1 (*P. avium*). **The Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 54, n. 1, p. 63-66, 1979.
- KAWASE, M. Etiolation and rooting in cuttings. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 18, p. 1066-1076, 1965.
- KONISHI, M., GALSTON, A.W. Light-induced change in phenolic inhibitors on indole acetic acid oxidase in cotyledons of *Pharbitis nil*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 3, p. 559-568, 1964.
- MAYNARD, B., BASSUK, N. Etiolation as a tool for rooting cuttings of difficult-to-root woody plants. **Proceedings International Plant Propagators' Society**, Seattle, v. 36, p. 488-495, 1986.
- MAYNARD, B.K., BASSUK, N.L. Stockplant etiolation and blanching of woody plants prior to cutting propagation. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 112, n. 2, p. 273-276, 1987.
- MAYNARD, B.K., BASSUK, N.L. Etiolation and banding effects on adventitious root formation. In: DAVIES, T.D., HAISSING, B.E., SANKHLA, N. (Eds.). **Adventitious root formation in cuttings**. Portland, Dioscorides Press, v. 2, p. 29-46, 1988.
- MAYNARD, B.K., BASSUK, N.L. Rooting softwood cuttings of *Acer griseum*: promotion by stockplant etiolation, inhibition by catechol. **HortScience**, Alexandria, v. 25, n. 2, p. 200-202, 1990.
- MOHAMMED, S., SORHAINDO, C.A. Production and rooting of etiolation cuttings of West Indian and hybrid avocado. **Tropical Agriculture**, Guildford, v. 61, n. 3, p. 200-204, 1984.
- MOLL, J.N., WOOD, R. An efficient method for producing rooted avocado cuttings. **Subtropica**, Johannesburg, v. 1, n. 11, p. 9-12, 1980.
- MUKHERJEE, S.K., CHATTERJEE, B.K. Effects of etiolation and growth regulators on air-layering of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). **Indian Journal of Horticulture**, New Delhi, v. 35, n. 1, p. 1-4, 1978.
- NELSON, S.H. Effects of stock plant etiolation on the rooting of saskatoon berry (*Amelanchier alnifolia* Nutt.) cuttings. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 67, p. 299-303, 1987.
- RINALLO, C., GELLINI, R., FABBRI, A. Studies on rhizogenesis in *Castanea sativa* Mill. cuttings. **Advances in Horticultural Science**, Florence, v. 1, p. 27-33, 1987.
- ZENK, M.H., MULLER, G. *In vivo* destruction of exogenously applied indolyl-3-acetic acid as influenced by naturally occurring phenolic acids. **Nature**, London, v. 200, p. 761-763, 1963.