

Capacidade de enraizamento de estacas de *Maytenus muelleri* Schwacke com a aplicação de ácido indol butírico relacionada aos aspectos anatômicos

LIMA, D.M.^{1*}; BIASI, L.A.²; ZANETTE, F.²; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.³; BONA, C.³; MAYER, J.L.S.⁴

¹Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Dois Vizinhos, Caixa Postal 157, CEP: 85660-000, Dois Vizinhos-Brasil *danielamlima@utfpr.edu.br ²Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Caixa Postal 19061, CEP: 80035-050, Curitiba-Brasil ³Departamento de Botânica, Setor de Ciências Biológicas, Centro Politécnico, UFPR, Caixa Postal 19031, CEP: 81531-980, Curitiba-Brasil ⁴Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Caixa-Postal 6109, CEP: 13083-970, Campinas-Brasil

RESUMO: A espinheira-santa (*Maytenus muelleri* - Celastraceae) é a planta medicinal nativa do Sul do Brasil, cujas folhas são tradicionalmente utilizadas pela medicina popular para o tratamento de úlceras e outros problemas gástricos. Existem poucos trabalhos publicados sobre a produção de mudas e técnicas de propagação vegetativa da espécie. A propagação de espinheira-santa por estaquia poderia ser um método eficiente para obtenção de material homogêneo, com características genéticas desejáveis, produzido a partir de plantas matrizes selecionadas. O presente trabalho teve por objetivo estudar os efeitos da aplicação de ácido indol butírico (AIB), em solução e em pó, no enraizamento de estacas de espinheira-santa coletadas nas quatro estações do ano (abril/2005 a janeiro/2006), bem como averiguar, por meio de análises anatômicas e histoquímicas das estacas, a presença de possíveis impedimentos à iniciação do enraizamento adventício. Estacas provenientes de ramos de plantas matrizes de seis anos cultivadas da Estação Experimental do Canguiri, Pinhais, PR, foram coletadas e tratadas com AIB (0, 1500, 3000 mg L⁻¹ ou mg kg⁻¹), em solução alcoólica (50% v/v) e em talco. Aos 365 dias foram avaliadas as porcentagens de estacas enraizadas e mortas, número e comprimento médio de raízes formadas por estaca. Análises anatômicas e histoquímicas com lugol e cloreto férrico foram realizadas. A estação mais promissora para o enraizamento foi o verão/2006 com 62,50% para o tratamento controle, devido à menor lignificação dos ramos no período de intenso crescimento vegetativo. O número médio de raízes formadas por estaca foi de 6,94 (solução) e o comprimento médio de raízes formadas/estaca chegou a 4,82 cm nesta mesma estação. As concentrações de AIB aplicadas não foram eficientes na indução radicial, independentemente do modo de aplicação. Foi detectada a presença de uma camada quase contínua de fibras e braquiescleréides, a qual constitui barreira anatômica à indução radicial. Os testes histoquímicos revelaram a presença de amido e de compostos fenólicos nas estacas, em todas as estações do ano. A dificuldade ou demora no enraizamento não pode ser justificada pela falta de reservas de amido nos tecidos das estacas, mas pode ser justificada pela presença de compostos fenólicos, possivelmente do grupo dos monofenóis, que causam a degradação do AIA, interferindo negativamente na indução do enraizamento.

Palavras-chave: auxina, plantas medicinais, espinheira-santa, estaquia, anatomia vegetal

ABSTRACT: Rooting capacity of *Maytenus muelleri* Schwacke cuttings with indolebutyric acid application related to anatomical aspects. "Espinheira-santa" (*Maytenus muelleri* - Celastraceae) is a medicinal plant native to Southern Brazil, the leaves of which are traditionally used in popular medicine for the treatment of stomach ulcers and other gastric problems. There are few published studies about seedling production and vegetative propagation techniques for this species. The propagation of "espinheira-santa" by cuttings could be an efficient method to obtain homogeneous material, with desirable genetic characteristics, produced from selected mother plants. This paper aimed to study the effects of indolebutyric acid (IBA) application, in

solution and in powder, on the rooting of “espinheira-santa” cuttings, collected in four seasons (April/2005 to January/2006), as well as to investigate, by means of cutting anatomical and histochemical analyses, the presence of possible impediments to adventitious rooting initiation. Cuttings from branches of six-year mother plants grown at “Estação Experimental do Canguiri”, Pinhais, Paraná State, Brazil, were collected and treated with IBA (0, 1500, 3000 mg L⁻¹ or mg kg⁻¹) in alcoholic solution (50% v/v) and in powder. After 365 days, the percentages of rooted and dead cuttings, the number and mean length of roots/cutting were evaluated. Anatomical and histochemical analyses were performed with lugol and ferric chloride. The most promising season for rooting was Summer/2006, with 62.50% of rooting for the control treatment, due to the lesser lignification degree of branches in intense vegetative growth period. The mean number of roots/cutting was 6.94 (solution) and the mean length of roots/cutting was 4.82 cm in that same season. The applied IBA concentrations were not efficient in inducing root growth, regardless of the application method. An almost continuous layer of fibers and stone cells was detected, constituting an anatomical barrier for rooting induction. The histochemical tests revealed the presence of starch and phenolic compounds in cuttings, in all seasons. The difficulty or delay in rooting cannot be justified by the absence of starch reserve in the cutting tissues but by the presence of phenolic compounds, possibly of the group of monophenols, which cause IAA degradation, negatively affecting rooting induction.

Key words: auxin, medicinal plants, “espinheira-santa”, cutting, plant anatomy

INTRODUÇÃO

Maytenus muelleria, pertencente à família Celastraceae, é uma planta medicinal conhecida vulgarmente como espinheira-santa, cujas folhas são utilizadas pela medicina popular no tratamento de úlceras e distúrbios gástricos (Santos et al., 1988; Lorenzi & Matos, 2002) e pelas propriedades analgésicas, cicatrizantes das afecções da pele e diurética (Körbes, 1995). A espécie distribui-se nos Estados da região sul do Brasil, no Mato Grosso do Sul e nos países vizinhos Paraguai, Uruguai e Argentina, ocorrendo predominantemente nas beiradas de Matas de Araucária, sub-bosques, capões e em matas ciliares, principalmente nas Florestas Ombrófila Mista e Estacional Semidecidual (Carvalho-Okano, 1992; Radomski, 1998; Carvalho-Okano & Leitão-Filho, 2004; Silva Júnior & Osaida, 2006).

Comercialmente a propagação de espinheira-santa é feita por via sexuada, uma vez que as sementes apresentam boa germinação (85%). No entanto, a capacidade de germinação é reduzida após os 60 dias de armazenamento em condições ambientais (Negrelle et al., 1999). Desse modo, é necessária a conservação em câmara fria, com temperatura de 5°C e 85% de umidade relativa do ar, para a conservação do vigor e manutenção da germinabilidade (Rosa, 1998).

As plantas de espinheira-santa oriundas de sementes possuem grande variabilidade quanto à morfologia e ao teor de metabólitos, não garantindo as características do material propagado (Pereira, 1998). Portanto, a propagação de espinheira-santa por estacas caulinares poderia ser um método eficiente para obtenção de material homogêneo, com características genéticas desejáveis, produzidas a

partir de plantas matrizes selecionadas, reduzindo o tempo de obtenção das mudas. Todavia, por meio de resultados obtidos por meio da estaquia utilizando propágulos herbáceos de espinheira-santa (*Maytenus aquifolia*), foi constatado que esta é uma espécie de difícil enraizamento, pois as primeiras raízes foram observadas após dois meses de instalação dos experimentos, sendo que aos seis meses após a instalação do experimento muitas estacas permaneceram vivas, mas sem ter ocorrido a formação de raízes (Silva, 1999).

A formação de raízes adventícias é dependente de vários fatores, destacando-se as condições fisiológicas, como a presença de carboidratos, substâncias nitrogenadas, aminoácidos, auxinas e compostos fenólicos. Tais substâncias, quando em proporções e concentrações adequadas, se acumulam na zona de produção de raízes, contribuindo com a emissão de raízes adventícias. A presença de carboidratos influencia na resposta de enraizamento, pois são fonte de carbono e de energia para a biossíntese de ácidos nucléicos e proteínas, além da síntese de outras substâncias essenciais à formação de raízes. Estacas com altos teores de carboidratos geralmente apresentam melhores porcentagens de enraizamento (Hartmann et al., 2002; Fachinello et al., 2005).

De acordo com Fachinello et al. (2005), as auxinas são os reguladores vegetais que possuem ação na formação de raízes adventícias, ativação de células do câmbio e promoção do crescimento de plantas. A formação de raízes adventícias é estimulada por elevados níveis de auxinas. As raízes adventícias podem se formar a partir de diversos tecidos, a partir

de células maduras que recuperam a atividade de divisão celular. Uma vez iniciada a divisão celular, essas células desenvolvem-se em meristema apical de raiz (Taiz & Zeiger, 2004). Assim sendo, a utilização de auxinas sintéticas como o ácido indol butírico (AIB) para tratamento das estacas estimula a iniciação radicial, promovendo o aumento da porcentagem de estacas enraizadas e a uniformidade do enraizamento (Boliani & Sampaio, 1998), características estas que possibilitam a redução do tempo de permanência das estacas no leito de enraizamento (Alvarenga & Carvalho, 1983). Já os cofatores do enraizamento são substâncias de ocorrência natural que atuam em conjunto com as auxinas no processo de formação de raízes, dentre os quais estão os compostos fenólicos (Hartmann et al., 2002; Fachinello et al., 2005). A presença destes pode tanto inibir (monofenóis) como estimular o enraizamento (polifenóis) (Ono & Rodrigues, 1996).

O conhecimento da estrutura interna do caule da espécie utilizada na estaquia é de grande importância, pois permite detectar a dificuldade de enraizamento, para fazer com que esta barreira possa ser superada. Em alguns casos ele ocorre pela presença de barreiras anatômicas à emissão dos primórdios radiciais (Ono & Rodrigues, 1996), devido à existência de fibras e esclereídes no floema primário do caule das estacas, formando um anel contínuo na região cortical do caule (White & Lovell, 1984).

A época do ano está relacionada com a consistência do lenho, afetando o potencial de formação de raízes, principalmente em espécies de difícil enraizamento. Fachinello et al. (2005) relataram que o alto grau de lignificação das estacas pode ser prejudicial à emissão das raízes, dificultando ainda mais o processo de enraizamento. Desse modo, considerou-se de extrema importância a realização de coletas de espinheira-santa em diferentes épocas do ano, para a obtenção de estacas de plantas matrizes em diferentes estádios fenológicos. No outono as plantas encontravam-se em período de repouso, no inverno elas iniciaram o florescimento, na primavera apresentavam flores e frutos e no verão se encontravam no estágio final de frutificação.

O presente trabalho teve por objetivo estudar os efeitos da aplicação de diferentes concentrações de AIB, em solução e em pó, no enraizamento de estacas caulinares de espinheira-santa coletadas em cada uma das quatro estações do ano, bem como averiguar, por meio de análises anatômicas e histoquímicas das estacas, a presença de possíveis impedimentos à iniciação do enraizamento adventício.

MATERIAL E MÉTODO

Estaquia

O material vegetal utilizado foi obtido de plantas matrizes de cerca de seis anos de idade

oriundas de sementes da área cultivada instalada em 1999, na Estação Experimental do Canguiri, UFPR. A Estação possui uma área de 440 ha e está localizada no município de Pinhais-PR. As coordenadas geográficas centrais aproximadas são latitude 25°23'30" S e longitude 49°07'30" W, com altitude de 930 m.

A área cultivada é composta por 120 plantas de espinheira-santa com espaçamento de 2,0 m na linha e 4,0 m na entrelinha. A condução da área de cultivo foi realizada anualmente, com poda feita no mês de julho de cada ano, e aplicação de calda sulfocálcica (Quimis®) nos ramos e no tronco. A adubação foi feita uma vez por ano, com a aplicação de composto orgânico no solo, na quantidade de 20 L por planta. O composto foi obtido da compostagem de esterco de carneiro com palha de capim, curtido durante cerca de seis meses antes do uso. Para a limpeza da área cultivada foi utilizada roçadeira, sendo o corte realizado de acordo com a necessidade, nas diferentes épocas do ano.

As coletas de espinheira-santa foram realizadas na terceira semana de cada estação do ano, tendo sido as datas de coleta e o respectivo estágio fenológico das plantas matrizes os seguintes: outono (15/04/2005, plantas em período de repouso), inverno (15/07/2005, plantas no início da floração), primavera (15/10/2005, plantas com flores e frutos) e verão (15/01/2006, plantas no final da frutificação).

A partir de ramos semilenhosos foram confeccionadas estacas caulinares com diâmetro variando entre 0,2 e 0,7 cm e comprimento entre 10 e 12 cm, corte em bisel na base e transversal acima da última gema axilar, mantendo-se um par de folhas na porção apical. As estacas foram submetidas a tratamento fitossanitário com solução de hipoclorito de sódio a 0,25% (v/v) por 15 minutos, seguido de lavagem em água corrente durante 5 minutos. As bases das estacas foram imersas em soluções alcoólicas (50% v/v) de AIB nas concentrações de 0, 1500 e 3000 mg L⁻¹, por 10 segundos, e em mistura de AIB com talco, nas concentrações 0, 1500 e 3000 mg kg⁻¹ AIB. O plantio foi realizado em tubetes de 53 cm³ contendo vermiculita de granulometria fina como substrato. As estacas foram mantidas em casa-de-vegetação com irrigação intermitente, do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições de 24 estacas por parcela, com arranjo fatorial de 3 x 2 (três concentrações de AIB e dois modos de aplicação, solução concentrada e pó), em cada época do ano, separadamente. A aplicação de reguladores vegetais na forma de solução concentrada é vantajosa pela menor necessidade de

equipamentos, possibilidade de utilização da solução várias vezes, baixa influência de condições ambientais e uniformidade de tratamento, apresentando como desvantagem a fitotoxicidade para a estaca quando são utilizadas concentrações muito elevadas. Já a forma em pó é muito utilizada pela facilidade de preparo e aplicação e também pela durabilidade da mistura, em contrapartida está a desuniformidade da quantidade de pó que fica aderida à estaca, podendo afetar o enraizamento, além da dificuldade de homogeneização da mistura durante o preparo e da necessidade de estufa para a evaporação do solvente utilizado. Desse modo, a utilização de solução e pó possibilitou a utilização de duas diferentes metodologias de aplicação de AIB no enraizamento de espinheira-santa, para obtenção de maiores informações sobre a fisiologia de enraizamento da espécie.

Aos 180 dias após o plantio foi realizada avaliação preliminar, na qual foram avaliadas as variáveis porcentagem de estacas enraizadas (estacas que apresentaram pelo menos uma raiz, podendo ou não apresentar calos), de estacas vivas (estacas que não formaram calos nem raízes); de estacas com calos (apresentaram a formação de calos, mas sem o enraizamento) e de estacas mortas (estacas que apresentaram necrose em toda ou na maior parte da extensão), número médio de raízes por estaca e comprimento médio das três maiores raízes formadas por estaca (cm). Como as porcentagens de enraizamento variaram de 0 a 29%, foram consideradas baixas e as estacas permaneceram no leito de enraizamento para avaliação posterior. Aos 365 dias após o plantio, as estacas foram avaliadas novamente, para as mesmas as mesmas variáveis citadas. Para as variáveis porcentagem de estacas vivas e estacas com calos verificou-se baixas porcentagens, portanto os dados não foram apresentados. Para testar a homogeneidade das variâncias utilizou-se o Teste de Bartlett e, para a comparação de médias, os dados foram submetidos ao Teste Tukey a 5% de probabilidade.

Análises anatómicas

Para a análise anatómica qualitativa foram coletadas amostras da base das estacas com aproximadamente 1 cm de comprimento, no momento da instalação do experimento, em cada estação do ano. O primeiro experimento de estaquia de espinheira-santa foi instalado na época de inverno (julho/2005), portanto, os primeiros resultados de enraizamento foram obtidos nessa estação. Sendo assim, foram coletadas as bases de estacas enraizadas logo após a retirada dessas do leito de enraizamento, ou seja, aos 365 dias após a instalação, no momento da avaliação do experimento (julho/2006).

As amostras foram fixadas em F.A.A. 70%

(formaldeído, ácido acético e etanol 70%, 5:5:90) (Johansen, 1940) por 72 horas e posteriormente conservadas em etanol 70%. Os materiais destinados à preparação de lâminas permanentes foram incluídos em meta-acrilato-glicol (historresina-Leica®), segundo a técnica de Feder & O'Brien (1968) e as indicações do fabricante. Os blocos foram seccionados em micrótomo de rotação, e os cortes foram obtidos com 7 µm de espessura e corados com azul de toluidina (O'Brien et al., 1965). As lâminas foram montadas com resina sintética (Permalte®).

Para as bases das estacas coletadas nas instalações dos experimentos, em todas as estações do ano, foram realizados testes histoquímicos com lugol e cloreto férrico (Johansen, 1940) a partir do material seccionado em micrótomo, com montagem semipermanente. As fotomicrografias foram realizadas em microscópio Zeiss com câmera digital Sony Cyber-Shot P200® acoplada.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Estaquia

As médias para as porcentagens de enraizamento nas quatro estações do ano são apresentadas na Tabela 1. Para as estacas coletadas nas estações outono e primavera/2005 e verão/2006 a análise de variância demonstrou interação entre os fatores modo de aplicação e concentração, constatando-se que os mesmos não são independentes. Entretanto, para o inverno/2005 não houve interação entre os fatores, demonstrando que os mesmos são independentes.

No outono/2005, verificou-se diferença significativa para a porcentagem de enraizamento entre o tratamento controle (33,33%) e o tratamento 1500 mg L⁻¹ AIB (28,13%), para o AIB aplicado em solução (Tabela 1). Para a aplicação de AIB em talco, valores significativamente superiores foram obtidos para o tratamento controle (35,67%) e o tratamento 3000 mg kg⁻¹ AIB (35,42%), em relação ao tratamento 1500 mg kg⁻¹ (25,00%). Para a forma de aplicação verificou-se diferença significativa para o tratamento 3000 mg kg⁻¹ de AIB em talco.

Observou-se que no inverno/2005 as taxas de enraizamento observadas foram baixas, com médias gerais de 18,40% para AIB em solução e 18,75% para AIB em talco, não sendo constatada diferença significativa entre as mesmas (Tabela 1). Para as concentrações de AIB testadas, verificou-se porcentagens médias de enraizamento superiores para os tratamentos 1500 (19,79%) e 3000 mg (23,96%) quando comparadas ao tratamento controle nesta época (11,98%). Os resultados obtidos no presente trabalho na época de inverno e com o uso de estacas semilenhosas divergem dos resultados

TABELA 1. Porcentagem de estacas de *M. muelleri* enraizadas, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e nas quatro estações do ano, avaliadas aos 365 dias. UFPR, Curitiba - PR, 2006 e 2007.

Estação do ano	Estacas enraizadas (%)				Médias
	Modo de aplicação	Concentração			
		0	1500	3000	
Outono 2005	Solução	33,33 A a	28,13 A b	31,25 B ab	30,90
	Talco	35,67 A a	25,00 A b	35,42 A a	32,03
	Médias	34,50	26,56	33,33	
Inverno 2005	Solução	10,42	18,75	26,04	18,40 A
	Talco	13,54	20,84	21,88	18,75 A
	Médias	11,98 b	19,79 a	23,96 a	
Primavera 2005	Solução	7,29 A ab	10,42 A a	5,21 A b	7,64
	Talco	10,42 A a	7,29 A ab	5,21 A b	7,64
	Médias	8,85	8,86	5,21	
Verão 2006	Solução	54,17 B a	54,17 A a	55,21 A a	54,52
	Talco	62,50 A a	59,38 A ab	53,13 A b	58,34
	Médias	58,34	56,78	54,17	

Concentração AIB (mg L⁻¹ ou mg kg⁻¹); Outono (CV% = 6,81, $\chi^2 = 5,145^{ns}$); Inverno (CV% = 16,87, $\chi^2 = 3,237^{ns}$); Primavera (CV% = 27,34, $\chi^2 = 1,502^{ns}$); Verão (CV% = 7,04, $\chi^2 = 2,140^{ns}$). Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e da mesma letra minúscula na linha não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

obtidos por Silva (1999), que considerou o inverno como a estação mais adequada para o enraizamento de estacas herbáceas de espinheira-santa (*M. aquifolia*), na qual a porcentagem de enraizamento chegando a 51,04%. Os resultados de enraizamento observados para *M. muelleri* foram inferiores àqueles verificados para *M. aquifolia*, sendo justificados pelo alto grau de lignificação do material vegetal semilenhoso, o que prejudicou o enraizamento. As diferenças na capacidade de enraizamento entre espécies de um mesmo gênero já foram relatadas por Danthu et al. (2002), Bona et al. (2004) e Lima et al. (2006).

Na primavera/2005, numericamente as taxas de enraizamento foram as menores dentre as quatro estações do ano (Tabela 1). Para a aplicação de AIB em solução foi constatada diferença significativa entre o tratamento 1500 mg L⁻¹ (10,42%) e o tratamento 3000 mg L⁻¹ (5,21%). Já para a aplicação em talco houve diferença significativa entre o tratamento controle (10,42%) e o tratamento 3000 mg L⁻¹ (5,21%).

No verão/2006 constatou-se a tendência de maiores porcentagens de enraizamento em estacas de espinheira-santa (Tabela 1). Quando o AIB foi aplicado em solução não foi detectada diferença significativa entre as concentrações testadas, enquanto que, quando foi aplicado em talco, verificou-

se diferença significativa entre o tratamento controle (62,50%) e o tratamento 3000 mg L⁻¹ (53,13%). Para o modo de aplicação foi observada diferença significativa entre os tratamentos controle, sendo o talco (62,50%) superior à solução (54,17%). Dentre as quatro estações estudadas, o material vegetal coletado no verão/2006 reuniu características mais favoráveis ao enraizamento, por possuir menor grau de lignificação, e consequentemente verificou-se numericamente a maior média geral de enraizamento (58,34%) para a espécie em questão (Tabela 1).

A aplicação de AIB em estacas de espinheira-santa promoveu o enraizamento somente para estacas coletadas no inverno/2005, com a aplicação de 3000 mg AIB (23,96%), sendo este percentual cerca de duas vezes maior que o obtido no tratamento controle (11,98%) (Tabela 1). De modo geral, os resultados demonstraram pouca ou nenhuma influência da auxina no enraizamento de estacas de espinheira-santa. Em experimento realizado com estacas de erva-mate a aplicação de AIB também não afetou o enraizamento, o que pode indicar uma quantidade endógena de auxinas suficiente para a promoção do processo de formação de raízes (Bitencourt et al., 2009), possibilidade essa a ser considerada para espinheira-santa. Embora estes reguladores vegetais possam aumentar a

porcentagem, velocidade, qualidade e uniformidade do enraizamento, por meio da ativação de células do câmbio vascular e do estímulo à iniciação da divisão celular para a formação de raízes adventícias (Hartmann et al., 2002), esses efeitos não foram confirmados no presente trabalho.

A ausência de resposta representativa à iniciação e ao desenvolvimento radicial de estacas de espinheira-santa pode estar relacionada à necessidade de alguns cofatores que atuam conjuntamente com as auxinas para a emissão de raízes. De acordo com Weaver (1986), em plantas de difícil enraizamento os cofatores estão presentes em quantidades insuficientes nas estacas, ou ainda existem substâncias inibidoras em concentrações elevadas nas mesmas. Desse modo, mesmo que a concentração de auxina seja suficiente para a iniciação radicial, o efeito dela e de outras substâncias promotoras existentes nos ramos é anulado no momento da coleta das estacas. A formação de inibidores está relacionada à mudança sofrida pelas plantas quando passam da juvenildade para a maturidade e torna-se obstáculo à formação de raízes. Portanto, em estudos futuros deve-se priorizar a utilização de plantas matrizes mais jovens ou então recorrer às técnicas de rejuvenescimento a serem empregadas com intuito de resgatar condições favoráveis ao enraizamento, conforme relatado por Carpanezzi et al. (2001), Wendling et al. (2003a), Wendling et al. (2003b), Xavier et al. (2003), Santos et al. (2005) e Alcantara et al. (2008). No caso de plantas que passam a ser consideradas de difícil enraizamento, não pela presença de inibidores, mas por apresentarem deficiência de determinados cofatores, estudos bioquímicos devem ser realizados para conhecimento dessas substâncias e para que elas possam ser aplicadas em combinação com as concentrações adequadas de auxinas, atuando efetivamente na promoção da iniciação radicial.

Para a aplicação de auxina na base das estacas de espinheira-santa foram testados dois modos de aplicação, solução e pó, e pela análise do panorama geral dos resultados de enraizamento, verificou-se diferença significativa somente no outono/2005, para a aplicação de AIB em talco (3000 mg kg^{-1}). Desse modo, pode-se inferir que, ambos os veículos podem ser utilizados para a aplicação de AIB nessa espécie. De acordo com Cuquel & Minami (1994), com o uso de veículos sólidos, o produto fica aderido à base da estaca e o período de exposição é mais prolongado que para veículos líquidos, nos quais a base da estaca é imersa em solução por determinado período. Este método de aplicação possui a desvantagem de não produzir resultados homogêneos, devido à desuniformidade do material aderido à base das estacas. Logo, o enraizamento pode ser prejudicado, resultando assim em porcentagens

baixas de estacas enraizadas (Ferreira, et al., 2009). Entretanto, o talco contendo auxina, mesmo tendo proporcionado contato do regulador vegetal com a estaca por mais tempo, apresentou pouco efeito favorável ao enraizamento da espécie, uma vez que nas estações outono, primavera e verão o tratamento controle não diferiu significativamente dos tratamentos auxínicos. Somente no inverno foi constatada a superioridade do AIB aplicado em talco. Portanto, foi possível perceber que o AIB não promoveu o enraizamento de modo a tornar técnica e economicamente viável a produção de mudas de espinheira-santa por meio da técnica de estaquia, com o uso de propágulos obtidos de plantas matrizes adultas.

Pelas porcentagens de enraizamento obtidas em todas as estações do ano, que variaram entre 5,21 e 62,50%, e pelo tempo de permanência no leito de enraizamento, *M. muelleri* é considerada uma espécie de difícil enraizamento, resultados estes que corroboram os relatos anteriores de Silva (1999), para *M. aquifolia*. A habilidade de uma estaca formar raízes varia com a espécie e também com a cultivar, porém a facilidade de enraizamento resulta da interação de diversos fatores como a presença de cofatores do enraizamento, compostos fenólicos, presença de barreiras anatômicas, e não apenas do potencial genético, conforme relatado por Hartmann et al. (2002) e Fachinello et al. (2005).

Em experimentos de estaquia realizados com espécies consideradas de difícil enraizamento como o pessegueiro (*Prunus persica*), cultivares Pérola de Mairinque e Tropical, não houve enraizamento das estacas aos 60 dias sem a aplicação de auxinas, e com a aplicação de 3000 mg L^{-1} AIB, os percentuais chegaram a aproximadamente 60,00% de enraizamento (Toffanelli et al., 2002). No entanto, ao contrário do pessegueiro, as estacas de espinheira-santa não responderam à aplicação de AIB nas concentrações 1500 e 3000 mg e, nas diferentes estações do ano, possivelmente devido à existência de quantidade de auxina endógena suficiente para o enraizamento. Em geral, para a variável porcentagem de enraizamento em cada uma das estações, a testemunha não diferiu dos tratamentos auxínicos (outono e verão com AIB em solução) ou foi superior aos mesmos (primavera com AIB em solução e talco; verão com AIB em talco), sendo verificada superioridade para os tratamentos auxínicos apenas no inverno.

Na presença ou ausência da aplicação de auxina, o processo de indução e formação de raízes em estacas caulinares de espinheira-santa necessitou de longo período de tempo para ocorrer, sendo as primeiras raízes observadas em avaliação prévia aos 180 dias de experimento, com aumento da porcentagem de enraizamento na avaliação realizada aos 365 dias. As espécies apresentam períodos de tempo variáveis para a indução do

enraizamento e o longo período de tempo necessário para o enraizamento foi anteriormente relatado por Ribas (1993), em experimento com estacas de *Macadamia integrifolia*, cujo tempo necessário para o estabelecimento do sistema radicial foi de 120 dias após a instalação do experimento. A variação no período de enraizamento de estacas também foi relatada por Adams & Roberts (1967) e Williams & Bilderback (1980), para o gênero *Rhododendron* (cultivares *Cynthia*, *Pink Pearl* e *Britannica*) com permanência no leito de enraizamento por 100 dias e para *Rhododendron maximum*, com 135 dias, respectivamente. Entretanto, não foram encontradas informações sobre outras espécies que permaneceram no leito de enraizamento por um período de tempo tão longo, quanto o verificado para espinheira-santa no presente trabalho.

Por meio dos resultados obtidos em cada uma das épocas do ano constatou-se que para a produção comercial de mudas de espinheira-santa, as porcentagens de enraizamento obtidas ainda são consideradas baixas mesmo com a aplicação de AIB, não justificando o investimento na utilização desse regulador vegetal. Nesse contexto, a utilização de poda para obtenção de propágulos herbáceos seria mais adequada para o enraizamento da espécie, o que coincidentemente ocorreu na época de verão/2006 no presente trabalho. Contudo, outros estudos são necessários para confirmação dos resultados obtidos para a espécie.

No outono/2005 e inverno/2005 as plantas matrizes de espinheira-santa não apresentaram crescimento vegetativo ativo; portanto, a coleta dos ramos nestas estações resultou em estacas com tecidos mais lignificados, inadequadas para a formação de raízes adventícias. A época do ano está relacionada com a consistência do lenho, afetando o potencial de formação de raízes, principalmente em espécies de difícil enraizamento (Dutra et al., 2002; Fachinello et al., 2005). De acordo com Kersten et al. (1994) e Fachinello et al. (2005) o alto grau de lignificação das estacas pode ser prejudicial à emissão das raízes, dificultando ainda mais o processo de enraizamento.

Na primavera/2005, as plantas de espinheira-santa encontravam-se em plena floração e no início da frutificação, pois o florescimento da espécie ocorre entre os meses de agosto e novembro, e a frutificação de outubro a março, podendo ocorrer frutificações mais precoces nos estados sulinos (Silva Júnior, 2003). A coleta de estacas durante o florescimento interferiu no processo de iniciação e desenvolvimento do sistema radicial. Estacas provenientes de ramos com gemas floríferas presentes tendem a enraizar menos que aquelas obtidas de ramos vegetativos em fase de crescimento ativo, mostrando um antagonismo entre floração e enraizamento, uma vez

que as flores mobilizam as reservas da estaca e abrem antes que o processo de iniciação das raízes ocorra (Fachinello et al., 2005).

No verão/2006, as plantas matrizes de espinheira-santa estavam no final do período de frutificação, além disso, os ramos coletados eram menos lignificados devido ao manejo por meio da poda realizada seis meses antes da coleta do material (julho/2005) e ao período de intenso crescimento vegetativo, características essas que favoreceram o enraizamento, e que devem ser testadas e consideradas em outros experimentos de enraizamento com a espécie. Esses resultados corroboram os de Ferreira et al. (2001), que em trabalho com *Sapium glandulatum* também obtiveram os melhores resultados no verão, os quais podem ser atribuídos ao fato de que, nessa estação, os ramos apresentavam-se em pleno crescimento vegetativo, com grande emissão de gemas e folhas jovens, importantes fontes de auxina endógena. No experimento de enraizamento realizado com alfazema-do-Brasil (*Aloysia gratissima*) obteve-se 26% de enraizamento com o uso de estacas semilenhosas, enquanto que com o uso de estacas herbáceas o enraizamento chegou a 95% (Santos et al., 2009), demonstrando que a juvenilidade existente em ramos menos lignificados favorece o enraizamento, conforme a tendência verificada para espinheira-santa no verão/2006. De acordo com Ferriani (2006), as práticas de rejuvenescimento por meio de poda têm demonstrado a otimização na capacidade de enraizamento de estacas, induzindo a emissão de brotações que apresentam características juvenis favoráveis à indução radicial. Alfenas et al. (2004) relataram que as brotações emitidas após a poda possuem características morfológicas e fisiológicas juvenis fundamentais para a recuperação da competência de enraizamento, ou seja, baixo grau de lignificação e elevada atividade do câmbio, apresentando uma consistência mais herbácea, resultante da fase mais ativa de crescimento dos ramos (Fachinello et al., 2005), garantindo desse modo a manifestação do potencial genético do material selecionado. Os tecidos que se encontram em fase mais jovem, com reservas suficientes e na presença de substâncias promotoras do enraizamento, possuem melhores condições para a desdiferenciação celular (Negrelle & Doni, 2001), fase anterior à divisão celular e necessária para a indução radicial e consequente formação dos primórdios.

As estacas de espinheira-santa também apresentaram brotações de gemas em todas as épocas do ano, independentemente da abscisão ou da permanência das folhas nas mesmas durante o período de enraizamento. As folhas jovens possivelmente se tornaram drenos fisiológicos de reservas existentes nas estacas e provocaram ainda, a perda de água por transpiração. De acordo com Fachinello et al. (2005), a brotação de gemas também

prejudica a absorção de água, justamente porque ainda não houve formação de raízes ocasionando, dessa maneira, o insucesso do enraizamento.

Para a variável número médio de raízes verificou-se, no outono/2005, a formação de 4,80 raízes por estaca com aplicação de AIB em solução e de 4,95 para AIB em talco (Tabela 2). Não foi verificada diferença significativa entre os modos de aplicação e as concentrações de AIB testadas. No inverno/2005 constatou-se número médio de raízes significativamente superior para o tratamento controle em talco (6,96), em relação ao tratamento controle em solução (3,46) (Tabela 2). Os menores valores para o número médio de raízes foram obtidos na primavera/2005. Não houve diferença significativa entre as concentrações testadas para o AIB aplicado em solução. No entanto, para o AIB em talco verificou-se diferença estatística para o tratamento controle (2,86) e o tratamento 1500 mg kg⁻¹ AIB (3,19) quando comparados ao tratamento 3000 mg kg⁻¹ AIB (1,00).

As estacas coletadas no verão/2006 apresentaram numericamente as maiores médias para o número médio de raízes formadas por estaca, com média geral de 6,94 para o AIB aplicado em solução, e de 6,83 para o AIB em talco, entretanto, não foi verificada diferença significativa entre os modos de aplicação e as concentrações de AIB testadas.

Estacas de espinheira-santa coletadas nesta estação (verão/2006) se encontravam em pleno crescimento e apresentavam tecidos menos lignificados que as estacas coletadas nas outras estações do ano, característica esta que possibilitou a formação de maior número de raízes. A época de coleta das estacas exerce influência no número de raízes emitidas por estaca, pois quando são coletadas em períodos de intenso crescimento vegetativo possuem consistência mais herbácea, e por isso, demonstram maior capacidade de enraizamento (Fachinello et al., 2005).

Para a variável comprimento médio das raízes a análise de variância demonstrou que não houve interação significativa entre os fatores modo de aplicação e concentração, constatando-se que os mesmos são independentes (Tabela 3).

Nas estações outono/2005, inverno/2005 e verão/2006, os valores médios foram muito próximos, variando de 3,69 cm no outono/2005 a 4,82 cm no verão/2006. Nas três estações não foi verificada diferença significativa entre os modos de aplicação e as concentrações de AIB testadas. Entretanto, verificou-se a tendência de formação de raízes de maior comprimento no verão/2006 (4,82 e 4,57 cm, em talco e em solução, respectivamente), devido às condições ambientais na época de coleta dos ramos, ou seja, no período do ano com temperaturas mais

TABELA 2. Número médio de raízes formadas por estaca de *M. muelleri*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e nas quatro estações do ano, avaliadas aos 365 dias. UFPR, Curitiba - PR, 2006 e 2007.

Estação do ano	Modo de aplicação	Número médio de raízes			Médias
		Concentração			
		0	1500	3000	
Outono 2005	Solução	4,50	3,51	6,39	4,80 A
	Talco	6,24	4,43	4,19	4,95 A
	Médias	5,37 a	3,97 a	5,29 a	
Inverno 2005	Solução	3,46 B a	3,98 A a	3,85 A a	3,76
	Talco	6,96 A a	4,31 A b	4,04 A b	5,10
	Médias	5,21	4,15	3,94	
Primavera 2005	Solução	2,06 A a	2,52 A a	2,88 A a	2,49
	Talco	2,86 A a	3,19 A a	1,00 B b	2,35
	Médias	2,46	2,85	1,94	
Verão 2006	Solução	6,50	6,99	7,32	6,94 A
	Talco	7,16	6,74	6,59	6,83 A
	Médias	6,83 a	6,86 a	6,95 a	

Concentração AIB (mg L⁻¹ ou mg kg⁻¹); Outono (CV% = 33,78, $\chi^2 = 5,416^{ns}$); Inverno (CV% = 18,53, $\chi^2 = 2,373^{ns}$); Primavera (CV% = 22,04, $\chi^2 = 2,693^{ns}$); Verão (CV% = 12,18, $\chi^2 = 1,350^{ns}$). Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e da mesma letra minúscula na linha não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

elevadas. Na primavera/2005 foram observados os menores valores para o comprimento de raízes, com uma média de 2,24 cm para o AIB aplicado em solução, e de 2,17 cm para o AIB aplicado em talco. Não houve diferença significativa entre os modos de aplicação. Para as concentrações de AIB testadas o tratamento controle (3,07 cm) foi numericamente superior aos demais tratamentos.

Para a produção comercial de mudas de espinheira-santa a porcentagem de enraizamento das estacas é de extrema importância e a qualidade do sistema radicial é determinante para a sobrevivência da muda, sendo verificada pela presença de raízes numerosas e desenvolvidas, características estas observadas no verão/2006. Dados esses que confirmam

os de Reis et al. (2000), os quais relataram que a formação do sistema radicial depende das características da espécie e do tipo de substrato utilizado. Desse modo, mudas com boa formação do sistema radicial fixam-se melhor ao solo quando transplantadas, o que caracteriza desenvolvimento rápido e vigoroso, além de aumentar as chances de sobrevivência a campo.

As porcentagens de mortalidade obtidas nos experimentos em cada época do ano são apresentadas na Tabela 4. Os percentuais médios de mortalidade observados para estacas de espinheira-santa foram elevados, principalmente na primavera/2005 (89,93 e 88,89%, solução e talco) e no inverno/2005 (71,53 e 68,40%, solução e talco).

TABELA 3. Comprimento médio de raízes formadas por estaca de *M. muelleri*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e nas quatro estações do ano, avaliadas aos 365 dias. UFPR, Curitiba - PR, 2006 e 2007.

Estação do ano	Comprimento médio das raízes (cm)				Médias
	Modo de aplicação	Concentração			
		0	1500	3000	
Outono 2005	Solução	4,25	4,00	3,90	4,05 A
	Talco	3,82	3,27	3,98	3,69 A
	Médias	4,03 a	3,63 a	3,94 a	
Inverno 2005	Solução	4,32	3,88	4,53	4,24 A
	Talco	4,10	4,85	4,42	4,46 A
	Médias	4,21 a	4,36 a	4,48 a	
Primavera 2005	Solução	3,01	1,61	2,09	2,24 A
	Talco	3,13	1,95	1,42	2,17 A
	Médias	3,07 a	1,78 b	1,75 b	
Verão 2006	Solução	4,74	4,81	4,91	4,82 A
	Talco	4,68	4,81	4,22	4,57 A
	Médias	4,71 a	4,81 a	4,56 a	

Concentração AIB (mg L⁻¹ ou mg kg⁻¹); Outono (CV% = 19,91, $\chi^2 = 6,982^{ns}$); Inverno (CV% = 32,04, $\chi^2 = 5,488^{ns}$); Primavera (CV% = 23,99, $\chi^2 = 4,085^{ns}$); Verão (CV% = 12,66, $\chi^2 = 3,205^{ns}$). Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e da mesma letra minúscula na linha não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

No outono a menor média de mortalidade foi verificada para o tratamento controle (41,67%), diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. As menores taxas médias de mortalidade foram observadas no verão/2006, sendo 26,74% para o AIB em solução, e 28,82% para AIB em talco, em contrapartida verificou-se numericamente as maiores porcentagens de enraizamento devido às características das estacas utilizadas. A mortalidade mais elevada no verão/2006 foi observada para o tratamento 3000 mg kg⁻¹ (32,29%) com a aplicação

de AIB em talco, diferindo significativamente do tratamento controle (26,04%). Situação semelhante foi verificada no outono, com maiores médias de mortalidade nos tratamentos auxínicos (53,12 e 48,44%, para os tratamentos 1500 e 3000, respectivamente), diferindo significativamente do tratamento controle (41,67%). Em ambos os casos esse fato pode ser observado devido ao efeito fitotóxico do regulador vegetal.

Os resultados obtidos para esta variável demonstram grande variação no comportamento dos

TABELA 4. Porcentagem de estacas de *M. muelleri* mortas, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e nas quatro estações do ano, avaliadas aos 365 dias. UFPR, Curitiba - PR, 2006 e 2007.

Estação do ano	Modo de aplicação	Estacas mortas (%)			Médias
		Concentração			
		0	1500	3000	
Outono 2005	Solução	43,75	53,13	46,87	47,92 A
	Talco	39,58	53,12	50,00	47,57 A
	Médias	41,67 b	53,12 a	48,44 a	
Inverno 2005	Solução	79,17 A a	69,79 A ab	65,63 A b	71,53
	Talco	64,58 B a	69,79 A a	70,83 A a	68,40
	Médias	71,88	69,79	68,23	
Primavera 2005	Solução	89,58	88,54	91,67	89,93 A
	Talco	84,38	89,58	92,71	88,89 A
	Médias	86,98 a	89,06 a	92,19 a	
Verão 2006	Solução	28,13 A a	27,09 A a	25,00 B a	26,74
	Talco	26,04 A b	28,13 A ab	32,29 A a	28,82
	Médias	27,09	27,61	28,65	

Concentração AIB (mg L⁻¹ ou mg kg⁻¹); Outono (CV% = 7,49, $\chi^2 = 3,165^{ns}$); Inverno (CV% = 7,50, $\chi^2 = 3,810^{ns}$); Primavera (CV% = 9,59, $\chi^2 = 1,579^{ns}$); Verão (CV% = 10,69, $\chi^2 = 1,582^{ns}$). Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna e da mesma letra minúscula na linha não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

mesmos tratamentos em épocas diferentes. Segundo Hartmann et al. (2002), a mortalidade das estacas varia de acordo com as condições intrínsecas destas e com as condições ambientais. A condição fisiológica da planta-matriz é determinante para o sucesso ou insucesso do enraizamento e refere-se ao conjunto de características internas da mesma, como por exemplo, conteúdo de água, teor de reservas e nutrientes, teor de inibidores, características anatômicas, estação ou época do ano, etc, no momento da coleta de estacas. A estação do ano em que se realiza a coleta das estacas influencia na mortalidade delas, devido a alteração do balanço fisiológico em dias mais curtos ou mais longos (Ribas, 1993). A estação/época do ano está diretamente relacionada à consistência da estaca, sendo as coletadas na primavera/verão apresentam-se mais herbáceas, enquanto que as coletadas no inverno possuem grau de lignificação mais elevado e tendem a enraizar menos. Todavia, estacas menos lignificadas estão sujeitas à desidratação e à morte. Além disso, a influência da época de coleta das estacas no processo de enraizamento também está relacionada às condições climáticas, principalmente da temperatura e da disponibilidade de água (Fachinello et al., 2005).

A elevada mortalidade de estacas de *M. muelleri* observada nos experimentos realizados no outono, inverno e primavera, pode ter sido causada

pela abscisão foliar observada em parte das estacas entre os 60 e os 90 dias após a instalação do experimento. Bortolini et al. (2009), ao estudar o enraizamento de diferentes espécies de *Tibouchina*, também verificaram elevados índices de mortalidade, os quais variaram entre 30,83 e 83,33%. Dentre as espécies estudadas, *Tibouchina granulosa* foi a mais sensível à desidratação durante o período de enraizamento, uma vez que apresentou o mais elevado índice de mortalidade. A dessecação é uma das principais causas da morte caulinar, uma vez que a ausência de raízes impede a absorção de água em quantidade suficiente, enquanto que as folhas e brotações continuam perdendo água por transpiração. Dick et al. (1996) obtiveram resultados semelhantes com estacas de *Calliandra calothyrsus*, sendo a mortalidade atribuída à abscisão foliar ocorrida após a inserção no leito de enraizamento. A queda precoce das folhas prejudica o enraizamento e pode comprometer a sobrevivência das estacas pela escassez de açúcares, proteínas e hormônios, substratos essenciais para as reações metabólicas das estacas (Ferreira et al., 2001; Pimenta et al., 2005). A morte das estacas de espinheira-santa pode ter sido ocasionada ainda pelo déficit de carboidratos, que seriam fornecidos pelas folhas, uma vez que as reservas armazenadas não foram suficientes, ou então não houve a mobilização em tempo hábil para o enraizamento.

Análises anatómicas

Em estacas de espinheira-santa coletadas no outono/2005, inverno/2005 e primavera/2005 foi possível observar restos de epiderme recoberta por cutícula espessa. O cilindro vascular encontrava-se em crescimento secundário em todas as estações. O felogênio instalou-se logo abaixo da epiderme e produziu de quatro a seis camadas de súber e duas a três camadas de feloderme (Figuras 1A, 1B e 1C). Somente na estação verão/2006, devido à poda realizada em julho/2005, as estacas coletadas

apresentavam características morfológicas juvenis, com epiderme unisseriada com cutícula espessa e sem instalação de felogênio (Figura 1D).

O córtex apresentou-se composto por seis a dez camadas de células parenquimáticas com conteúdo denso (compostos fenólicos) (Figuras 1A a 1D). Idioblastos com cristais de oxalato de cálcio foram observados tanto nas células do córtex quanto nas da medula (Figura 1E), nos resultados esses já relatados anteriormente por Jacomassi & Machado (2003) e Duarte & Debur (2005),

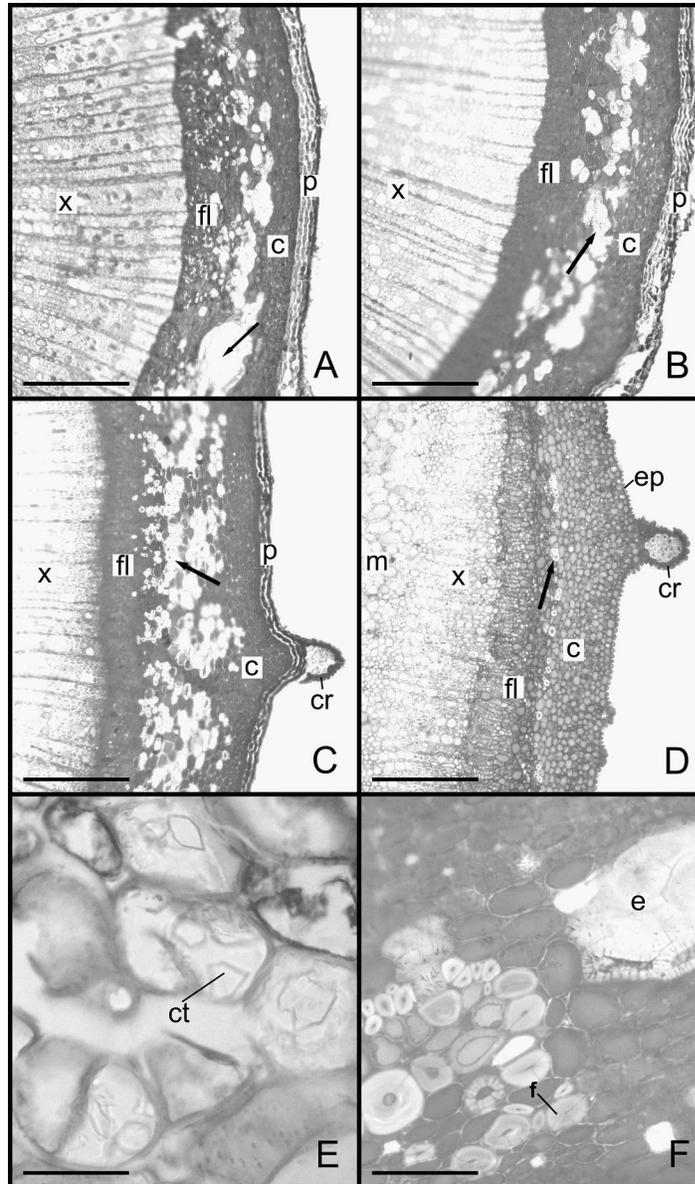


FIGURA 1. Secções transversais da base das estacas caulinares semilenhosas de *M. muelleri*. **A.** Outono; **B.** Inverno; **C.** Primavera; **D.** Verão. **A-C.** Visualizar a periderme (p), o córtex (c), o floema (fl), o xilema (x), camada de fibras pericíclicas e braquiesclereídes (→). Barra = 200 µm. **C.** Visualizar a carena (cr). **D.** Visualizar a epiderme (ep), o floema (fl), o xilema (x), a medula (m) e fibras pericíclicas dispersas no córtex (↔). Barra = 200 µm. **E.** Detalhe dos monocristais prismáticos (ct) nas células da medula. Barra = 50 µm. **F.** Detalhe das fibras pericíclicas (f) e braquiesclereídes (e) no córtex. Barra = 50 µm. UFPR, Curitiba - PR, 2006.

nas mesmas regiões do caule de espinheira-santa.

As fibras pericíclicas e braquiesclereídes, isoladas ou em pequenos grupos, formaram uma camada quase contínua envolvendo o cilindro vascular de *Maytenus muelleri* (Figuras 1A, 1B, 1C e 1F), constituindo esse anel esclerenquimático, uma barreira anatômica ao enraizamento, conforme relatado anteriormente por Silva (1999) em estacas de *M. aquifolia*. Os resultados obtidos no presente trabalho são corroborados pelos de Jacomassi & Machado (2003) e Duarte & Debur (2005). Entretanto, em trabalho realizado com guaco (*Mikania glomerata* Sprengel), Boeger et al. (2004) observaram cordões de fibras floemáticas externos ao floema, os quais não foram considerados um impedimento para a formação das raízes. No verão/2006, as fibras ocorreram na região pericíclica (periferia do floema primário) em pequenos grupos ou isoladas, e os braquiesclereídes estavam ausentes, sendo a faixa cambial mais larga nessa estação (Figura 1D), com presença de maior quantidade de células em diferenciação, caracterizando o crescimento ativo.

Essas características observadas no verão/2006 encontram-se relacionadas ao menor grau de lignificação das estacas e à elevação das temperaturas no mês de coleta, o que consequentemente proporcionou numericamente a obtenção das maiores porcentagens médias de enraizamento (54,52 e 58,34, para solução e pó, respectivamente). Paiva & Gomes (1993) verificaram que a diferença entre variedades de fácil ou difícil enraizamento pode estar inversamente relacionada com a continuidade da camada de esclerenquima, ou seja, quanto menor a continuidade da camada de fibras no córtex, maior a facilidade de enraizamento da espécie.

No xilema secundário os raios observados eram estreitos (uma a duas camadas de células), os elementos de vaso estavam isolados na maioria e as fibras eram abundantes e possuíam parede celular espessada e lignificada (Figuras 1A a 1D). Internamente ao xilema, encontrava-se a medula, de contorno irregular e formada por células parenquimáticas. A presença de raios vasculares estreitos no xilema também interfere no processo de enraizamento da espécie. A facilidade de enraizamento de algumas espécies pode estar relacionada à presença de raios vasculares largos, como em *Vitis vinifera* L., e a dificuldade de enraizamento pela presença de raios vasculares estreitos, como em *Pyrus* sp. (Fahn, 1990) e *Vitis rotundifolia* cv. Topsail (Mayer et al., 2006), característica esta que também foi observada nas secções das bases das estacas de espinheira-santa.

Desse modo, o lento ou difícil enraizamento da espécie pode ser justificado pelas características anatômicas do caule de espinheira-santa. Pelas comparações das características dos ramos coletados no outono, inverno e primavera/2005 com

aqueles coletados no verão/2006, verificou-se a tendência de que quanto mais lignificado o ramo utilizado para a confecção das estacas, menor a chance de sucesso no enraizamento.

O teste histoquímico com lugol, para detecção da presença de amido, revelou que esse estava presente nas secções da base das estacas coletadas em todas as estações do ano, variando na localização no interior do caule e possivelmente na quantidade. No outono/2005, verificou-se a presença de grãos de amido nas células do córtex, nas células dos raios do xilema e nas células da medula (Figuras 2A), bem como no inverno/2005 (Figura 2B).

Na primavera/2005 verificou-se a presença de amido nas células do córtex e da medula (Figura 2C) e no verão/2006 o mesmo estava presente somente nas células do córtex, estando ausente na medula (Figura 2D). Os resultados obtidos por meio da análise das secções das bases das estacas estão em conformidade com os de Duarte & Debur (2005), os quais afirmaram que as células do parênquima cortical e dos raios do xilema do caule de *M. muelleri* podem conter amiloplastos. Com relação à presença de amido nas estacas de espinheira-santa, as observações estão de acordo com Fachinello et al. (2005), os quais afirmaram que o teor de carboidratos nas estacas é variável conforme a época do ano, e geralmente os ramos mais maduros e mais lignificados (outono/inverno) mostram tendência de apresentar altos teores de carboidratos.

Nas estacas de espinheira-santa, embora a análise quantitativa de amido não tenha sido realizada, aparentemente os maiores teores de amido foram verificados no outono/2005 e na primavera/2005, estações com baixa porcentagem de enraizamento. Embora as estacas possuíssem amido nestes períodos, pode não ter havido tempo suficiente para a mobilização do mesmo e de outras substâncias armazenadas para o enraizamento. Verificou-se as maiores porcentagens de enraizamento no verão/2006, estação na qual os ramos coletados apresentavam-se menos lignificados e, aparentemente as estacas coletadas possuíam visualmente os menores teores de amido. A maior concentração de amido nesta estação foi verificada nas células do córtex, enquanto que na medula estava ausente, o que pode ser um indicio de que o amido tenha sido mobilizado mais eficientemente para a formação de raízes, já que no verão/2006 foram obtidos os maiores percentuais de enraizamento (de 53,13 a 62,50%).

As estacas coletadas no outono/2005 possivelmente apresentaram teores de amido mais elevados, sendo este distribuído no córtex, nas células dos raios do xilema e na medula. Entretanto, nesta estação, o amido parece não ter sido totalmente mobilizado para a formação de raízes ou ainda tenha

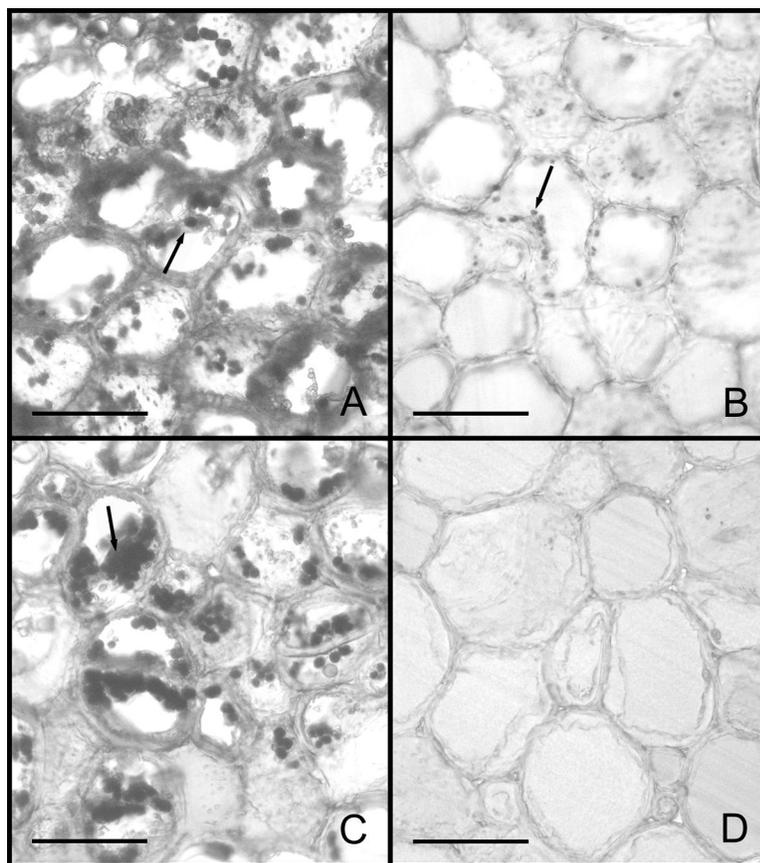


FIGURA 2. Secções transversais da base das estacas caulinares semilenhosas de *M. muelleri*. Teste histoquímico para presença de amido. **A.** Outono. **B.** Inverno. **C.** Primavera. **D.** Verão. Visualizar grãos de amido (→) nas células da medula. Barra = 50 µm. UFPR, Curitiba - PR, 2006.

sido lentamente mobilizado, apresentando desse modo, após a estação verão/2006, os maiores percentuais de enraizamento (de 25,00 a 35,67%). Os ramos coletados nesta estação apresentavam-se mais lignificados e, conseqüentemente, o anel esclerenquimático caracterizado pela maior quantidade de fibras e braquiesclereídes dificultou a passagem de primórdios e a saída das raízes formadas.

O teste histoquímico com cloreto férrico, para detecção da presença de compostos fenólicos, revelou que esses estavam presentes nas secções da base das estacas coletadas em todas as épocas do ano, nas células do córtex, nas células dos raios do xilema e nas células da medula. Estes resultados estão de acordo com os de Duarte & Debur (2005), que relataram a ocorrência de compostos fenólicos no córtex e nos raios do xilema do caule de *Maytenus muelleri*. Vários estudos detectaram maior quantidade de compostos fenólicos durante o processo de enraizamento. Devido à ação antioxidante, os compostos fenólicos (polifenóis) presentes nas estacas podem estimular a formação de raízes adventícias, protegendo o ácido indol acético (IAA) da oxidação (De Klerk et al., 1999). Maynard &

Bassuk (1988) relataram que os compostos fenólicos endógenos existentes nas estacas, principalmente aqueles do grupo dos monofenóis, são responsáveis pela ativação da síntese do complexo enzimático AIA oxidase/peroxidase, o qual promove a destruição do AIA endógeno, reduzindo, conseqüentemente, a indução do enraizamento em estacas. Em algumas espécies, ocorre o escurecimento dos tecidos do corte da estaca, causada pela oxidação de compostos fenólicos, que podem dificultar o enraizamento. Quando os diferentes grupos de fenóis entram em contato com o oxigênio, os diferentes grupos de fenóis iniciam reações de oxidação nos tecidos, resultando em compostos tóxicos (Fachinello et al., 2005).

A maior parte das espécies florestais possui capacidade de desenvolver estruturas anatômicas e morfológicas quando crescem em diferentes situações de luminosidade, sendo denominadas de folhas de sol e de sombra quanto à natureza morfológica e anatômica. As plantas matrizes utilizadas neste trabalho foram cultivadas a pleno sol, condição esta que influenciou nas características morfológicas e anatômicas e que pode ter alterado a composição química das mesmas e influenciado no processo de enraizamento. Segundo Radomski

(1998), dependendo do ambiente em que se desenvolvem, diferenças químicas e morfológicas são observadas nas plantas. O crescimento a pleno sol aumenta a quantidade de taninos, polifenóis totais e polifenóis não-tanantes em espinheira-santa, demonstrando influência direta da energia de radiação sobre a composição fitoquímica, quando associada à baixa concentração de nutrientes do solo. Possivelmente, este aumento não esteja relacionado ao acréscimo na taxa fotossintética, mas sim aos altos níveis de radiação ultravioleta absorvidos pelas folhas expostas ao sol. Desse modo, as estacas retiradas de ramos coletados das plantas matrizes de espinheira-santa cultivadas a pleno sol, supostamente teriam teores mais elevados de polifenóis, os quais estimulariam a indução de raízes adventícias, pela inativação do complexo enzimático AIA oxidase/peroxidase. Todavia, no presente trabalho essa hipótese não foi confirmada, pois foram realizados apenas testes qualitativos para detecção da presença desse grupo de compostos, portanto essa informação deve ser confirmada em estudos futuros.

Assim como os fatores ambientais afetaram a produção de polifenóis, a síntese de outros compostos pode ter sido influenciada pela luz, como por exemplo, de substâncias inibidoras como os compostos fenólicos do grupo dos monofenóis, que também pode ter sofrido alteração, havendo aumento na concentração dos mesmos nestas plantas. No entanto, são necessários

estudos bioquímicos específicos para identificar esses compostos químicos e análises quantitativas, no sentido de esclarecer se estes podem ou não estar influenciando na baixa taxa de enraizamento, sendo complementados por estudos anatômicos sobre a ontogênese das raízes adventícias, para definir os possíveis fatores que interferem no enraizamento da espécie. Além disso, é importante considerar que a significância e a eficiência do controle da oxidação de compostos fenólicos em estaquia ainda necessitam de maiores estudos para obtenção de informações, uma vez que os resultados existentes são insignificantes (Fachinello et al., 2005).

Nas análises anatômicas realizadas nas secções transversais das bases das estacas enraizadas e avaliadas aos 365 dias não foram observados primórdios radiciais em formação. A ausência de coletas intermediárias das estacas no decorrer do experimento dificultou a observação da indução e da formação de primórdios nas secções das bases das estacas. A origem provável das raízes de espinheira-santa é externa ao xilema (Figuras 3A e 3B), ocorrendo a partir do câmbio ou do periciclo, estando esta observação de acordo com a de Silva (1999), a qual sugeriu que os primórdios radiciais de espinheira-santa (*M. aquifolia*) provavelmente originam-se do câmbio vascular.

Em secções transversais das bases das estacas enraizadas, verificou-se ainda que as raízes

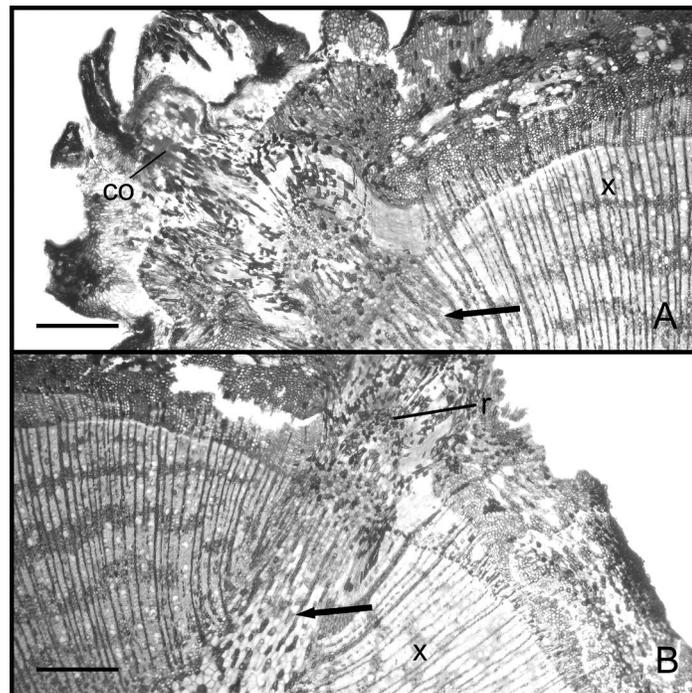


FIGURA 3. Secções transversais da base das estacas caulinares semilenhosas de *M. muelleri*. A. Visualizar a conexão vascular (→) da raiz adventícia, célula com compostos fenólicos na raiz em formação (co) e xilema (x). Barra = 200 µm. B. Visualizar a raiz (r) e a conexão vascular da raiz (→). Barra = 200 µm. UFPR, Curitiba - PR, 2007.

formadas apresentavam conexão vascular após 365 dias de permanência no leito de enraizamento (Figuras 3A e 3B). A conexão vascular de raízes originadas a partir do câmbio ou de tecidos próximos pode ocorrer com a diferenciação dos elementos xilemáticos e floemáticos ou pela diferenciação de células ou tecidos vizinhos ao primórdio (Iritani et al., 1986). A observação da conexão vascular em estacas de espinheira-santa comprova a funcionalidade das raízes formadas, as quais apresentam capacidade de absorção. As células parenquimáticas do córtex das raízes formadas já apresentavam compostos fenólicos (Figura 3A).

CONCLUSÃO

Nas condições em que foi realizado o presente trabalho, foi possível concluir que após 365 dias estacas semilenhosas de espinheira-santa não apresentaram estímulo ao enraizamento em decorrência da aplicação de AIB até a concentração de 3000 mg L⁻¹ ou 3000 mg kg⁻¹, em solução ou pó. Os ramos com características mais favoráveis ao enraizamento foram aqueles coletados no verão devido à utilização de material menos lignificado resultante da realização de poda, com índices de enraizamento superiores a 50%. O rejuvenescimento é fator determinante para a otimização do enraizamento de estacas de espinheira-santa. A dificuldade de enraizamento de espinheira-santa está relacionada à presença de um anel esclerenquimático quase contínuo no córtex caulinar, composto de fibras pericíclicas e esclereídes, o qual constitui barreira mecânica à emissão radicial. A presença de amido foi verificada nas estacas coletadas em todas as épocas do ano, entretanto, no verão mesmo com as maiores porcentagens de enraizamento, os grãos de amido estavam aparentemente presentes em menor quantidade e restritos à região do córtex caulinar. A dificuldade de enraizamento de estacas de espinheira-santa não é justificada pela ausência de amido, mas pode ser justificada pela presença de compostos fenólicos, possivelmente do grupo dos monofenóis, que causam a degradação do AIA, interferindo negativamente na indução do enraizamento.

AGRADECIMENTO

À CAPES pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIA

- ADAMS, D.B.; ROBERTS, A.N. A morphological time scale for predicting potential in *Rhododendron* cuttings. **American Society for Horticultural Science**, v.91, p.753-60, 1967.
- ALCANTARA, G.B. et al. Efeitos do ácido indolilbutírico (AIB) e da coleta de brotações em diferentes estações do ano no enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. **Scientia Florestalis**, v.36, n.78, p.151-6, 2008.
- ALFENAS, A.C. et al. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: UFV, 2004. 442p.
- ALVARENGA, L.R.; CARVALHO, V.D. Uso de substâncias promotoras de enraizamento de estacas frutíferas. **Informe Agropecuário**, v.9, n.101, p.47-55, 1983.
- BITENCOURT, J. et al. Enraizamento de estacas de ervamate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill.) provenientes de brotações rejuvenescidas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.3, p.277-81, 2009.
- BOEGER, M.R.T.; ALQUINI, Y.; NEGRELLE, R.R.B. Características anatômicas da região nodal de estacas em diferentes fases do desenvolvimento de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel - Asteraceae) e formação de raízes adventícias. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.6, n.2, p.1-6, 2004.
- BOLIANI, A.C.; SAMPAIO, V.R. Efeitos do estiolamento basal e uso do ácido indol butírico no enraizamento de estacas de nespereira (*Eriobotrya japonica* Lindley). **Cultura Agronômica**, v.7, n.1, p.51-63, 1998.
- BONA, C. et al. Propagação de três espécies de carqueja com estacas de diferentes tamanhos. **Semina Ciências Agrárias**, v.25, n.3, p.179-84, 2004.
- BORTOLINI, M.F. et al. Enraizamento de estacas caulinares de quatro espécies do gênero *Tibouchina* Aubl. (Melastomataceae Juss.). **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.14, n.2, p.187-92, 2009.
- CARPANEZZI, A.A.; TAVARES, F.R.; SOUSA, V.A. Estaquia de corticeira-do-banhado (*Erythrina cristagalli* L.). **Comunicado Técnico Embrapa Florestas**, n.64, p.1-6, 2001.
- CARVALHO-OKANO, R.M. **Estudo taxonômico do gênero *Maytenus* Mol. Emend. Mol. (CELASTRACEAE) do Brasil extra-amazônico**. 1992. 253p. Tese (Doutorado em Ciências, Biologia Vegetal) - Setor de Ciências, Universidade de Campinas, Campinas.
- CARVALHO-OKANO, R.M.; LEITÃO-FILHO, H.F. O gênero *Maytenus* Mol. emend. Mol. (Celastraceae) no Brasil extra-amazônico. In: REIS, M.S.; SILVA, S.R. (Orgs.). **Conservação e uso sustentável de plantas medicinais e aromáticas: *Maytenus* spp., espinheira-santa**. Brasília: Ibama, 2004. v.1. p.11-52. (Coleção plantas medicinais e aromáticas, espinheira-santa).
- CUQUEL, F.L.; MINAMI, K. Enraizamento de estacas de crisântemo (*Dendranthema morifolium* (Ramat.) Tzvelev) tratadas com ácido indolbutírico veiculado em talco. **Scientia Agricola**, v.51, n.1, p.28-35, 1994.
- DANTHU, P. et al. Vegetative propagation of some West African *Ficus* species by cuttings. **Agroforestry Systems**, v.55, p.57-63, 2002.
- DE KLERK, G.J.; KRIEKEN, W.V.D.; DE JONG, J.C. The formation of adventitious roots: new concepts, new possibilities. Review. **In Vitro Cellular Developmental Biology Plant**, v.35, p.189-99, 1999.
- DICK, J.M.P.; BISSET, H.; McBEATH, C. Provenance variation in rooting ability of *Calliandra calothyrsus*. **Forest Ecology and Management**, v.87, p.175-84, 1996.
- DUARTE, M.R.; DEBUR, M.C.S. Stem and leaf morphoanatomy of *Maytenus ilicifolia*. **Fitoterapia**, v.76, p.41-9, 2005.
- DUTRA, L.F.; KERSTEN, E.; FACHINELLO, J.C. Época

- de coleta, ácido indolbutírico e triptofano no enraizamento de estacas de pessegueiro. **Scientia Agricola**, v.59, n.2, p.327-33, 2002.
- FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 221p.
- FAHN, A. **Plant anatomy**. Oxford: Pergamon, 1990. 588p.
- FEDER, N.; O'BRIEN, T.P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany**, v.55, p.123-42, 1968.
- FERREIRA, B.G.A. et al. Enraizamento de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. pela aplicação de ácido indolbutírico e ácido bórico. **Leandra**, n.16, p.11-6, 2001.
- FERREIRA, B.G.A. et al. Metodologias de aplicação de AIB no enraizamento de estacas semilenhosas de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.2, p.196-201, 2009.
- FERRIANI, A.P. **Estaquia de vassourão-branco (*Piptocarpa angustifolia* Dusén)**. 2006. 85p. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- HARTMANN, H.T. et al. **Plant propagation: principles and practices**. 7.ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002. 880p.
- IRITANI, C.; SOARES, R.V.; GOMES, A.V. Aspectos morfológicos da aplicação de reguladores de crescimento nas estacas de *Ilex paraguariensis* St. Hilare. **Acta Biológica Paranaense**, v.15, n.1-4, p.21-46, 1986.
- JACOMASSI, E.; MACHADO, S.R. Características anatômicas de espinheira-santa (*Maytenus muelleri* Schwancke e *Maytenus aquifolia* Mart.) e mata-olho (*Sorocea bonplandii* (Baill.) Burg. Lanj. & Bôer.) para o controle de qualidade da matéria prima. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.6, n.1, p.84-96, 2003.
- JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: MacGraw - Hill, 1940. 523p.
- KERSTEN, E.; TAVARES, S.W.; NACHTIGAL, J.C. Influência do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de ameixeira (*Prunus salicina* Lindl.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.16, n.1, p.215-22, 1994.
- KÖRBES, V.C. **Plantas medicinais**. Francisco Beltrão: Associação de Estudos, Orientação e Assistência Rural, 1995. 188p.
- LIMA, D.M. et al. Substratos e concentrações de ácido naftaleno acético no enraizamento de estacas semilenhosas de *Calliandra seloi* e *Calliandra tweedii*. **Scientia Agraria**, v.1, n.1-2, p.105-11, 2006.
- LIMA, D.M. et al. Enraizamento de miniestacas de espinheira santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek) em diferentes substratos. **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, n.2, p.617-23, 2009.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.
- MAYER, J.L.S.; BIASI, L.A.; BONA, C. Capacidade de enraizamento de estacas de quatro cultivares de *Vitis L.* (Vitaceae) relacionada com os aspectos anatômicos. **Acta Botanica Brasilica**, v.20, n.3, p.563-8, 2006.
- MAYNARD, B.O.K.; BASSUK, N.L. Etiolation and banding effects on adventitious root formation. In: DAVIS, T.D.; HAISSIG, B.E.; SANKHLA, N. **Adventitious root formation in cuttings**. Portland, Oregon: Dioscorides Press, 1988. p.29-46.
- NEGRELLE, R.R.B. et al. Tecnología de produção de sementes de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. - Celastraceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v.21, n.1, p.76-81, 1999.
- NEGRELLE, R.R.B.; DONI, M.E. Efeito da maturidade dos ramos na formação de mudas de guaco por meio de estaquia. **Horticultura Brasileira**, v.19, p.351-5, 2001.
- O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; Mc CULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. **Protoplasma**, v.59, n.2, p.368-73, 1965.
- ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Jaboticabal: FUNEP, 1996. 83p.
- PAIVA, H.N.; GOMES, J.M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Viçosa: Imprensa Universitária UFV, 1993. 40p.
- PEREIRA, A.M.S. Micropropagação de *Maytenus aquifolium* Mart. e *Maytenus ilicifolia* Mart. (espinheira-santa). In: MING, L.C. et al. **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. v.2. Botucatu: UNESP, 1998. p.19-32.
- PIMENTA, A.C. et al. Interações entre reguladores vegetais, épocas do ano e tipos de substrato no enraizamento de estacas caulinares de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. (pau-de-leite). **Boletim de Pesquisa Florestal**, n.50, p.53-67, 2005.
- RADOMSKI, M.I. **Caracterização ecológica e fitoquímica de *Maytenus ilicifolia* Mart., em populações nativas, no município da Lapa - Paraná**. 1998. 98p. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- REIS, J.M.R. et al. Efeito do estiolamento e do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas do porta-enxerto *Pyrus calleryana* Dcne. **Ciência e Agrotecnologia**, v.24, n.4, p.931-8, 2000.
- RIBAS, K.C. **Efeito de auxinas, ácido bórico e suas interações no enraizamento de estacas herbáceas de *Macadamia integrifolia* Maiden & Betche**. 1993. 128p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, Botânica) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- ROSA, S.G.T. Caracterização de sementes de *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex. Reiss, espinheira-santa e viabilidade de sua propagação sexuada. In: MING, L.C. et al. (Orgs.). **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: UNESP, 1998. p.33-51.
- SANTOS, C.A.M.; TORRES, K.R.; LEONART, R. **Plantas medicinais: herbarium flora et scientia**. 2.ed. Curitiba: Scientia et Labor, 1988. p.50.
- SANTOS, A.P. et al. Efeito da estaquia, miniestaquia, microestaquia e micropropagação no desempenho silvicultural de *Eucalyptus grandis*. **Scientia Florestalis**, n.68, p.29-38, 2005.
- SANTOS, F.M. et al. Produção de mudas de *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc. por meio da propagação sexuada e assexuada. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.1, p.130-6, 2009.
- SILVA JÚNIOR, A.A.; OSAIDA, C.C. Espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* - da flora ao medicamento). **Agropecuária Catarinense**, v.19, n.3, p.36-40, 2006.
- SILVA, C.P. **Efeitos do ANA, ácido bórico, paclobutrazol e da época de coleta, no enraizamento de estacas**

caulinares de espinheira-santa (*Maytenus aquifolia* Mart.). 1999. 99p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas, Botânica) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

SILVA JÚNIOR, A.A. **Essentia herba**: plantas bioativas. Florianópolis: Epagri, 2003. v.1, 441p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 722p.

TOFANELLI, M.B.D. et al. Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de ramos semilenhosos de pessegueiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.7, p.939-44, 2002.

WEAVER, R.Y. **Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura**. 3.ed. Barcelona: Trillas, 1986. 540p.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Miniestaquia seriada no rejuvenescimento de clones de *Eucalyptus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, n.4, p.475-80, 2003a.

WENDLING, I. et al. Influência da miniestaquia seriada no vigor de minicepas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v.27, n.5, p.611-8, 2003b.

WHITE, J.; LOVELL, P.H. The anatomy of root initiation in cuttings of *Griselinia litoralis* and *Griselinia licida*. **Annals of Botany**, v.54, p.7-20, 1984.

WILLIAMS, R.F.; BILDERBACK, T.E. Factors affecting rooting of *Rhododendron maximum* and *Kalmia latifolia* stem cuttings. **Hortscience**, v.15, n.6, p.827-8, 1980.

XAVIER, A. et al. Enraizamento de miniestaca caulinar e foliar na propagação vegetativa de cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell.). **Revista Árvore**, v.27, n.3, p. 351-6, 2003.