

# **Estudo do ANA e de co-cofatores de enraizamento na propagação vegetativa de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden**

**Fábio Scachetti Ciciliato**  
**Elizabeth Orika Ono\***  
**João Domingos Rodrigues**

Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Campus de Botucatu,  
Universidade Estadual Paulista – UNESP, C.P. 510, CEP 18618-000, Botucatu, SP.

\*Autor para correspondência

Aceito para publicação em 08/10/2002

## **Resumo**

O efeito dos tratamentos com ácido naftaleno-acético (ANA), boro, ácido caféico e paclobutrazol (PBZ), isolados ou combinados, no enraizamento de estacas de eucalipto foi estudado. As estacas foram retiradas de ramos herbáceos de *Eucalyptus grandis* de 3 anos de idade do clone G0269, com aproximadamente 10 cm de comprimento e 2 folhas na porção apical. As estacas foram imersas a aproximadamente 2 cm da base das estacas por 18 horas nos seguintes tratamentos: T1 – água; T2 – Boro (B) a 150 mg.L<sup>-1</sup>; T3 – ANA (ácido naftaleno-acético) a 200 mg.L<sup>-1</sup>; T4 – paclobutrazol a 100 mg.L<sup>-1</sup>; T5 – ácido caféico a 100 mg.L<sup>-1</sup>; T6 – ANA 200 mg.L<sup>-1</sup> + B 150 mg.L<sup>-1</sup>; T7 – paclobutrazol 100 mg.L<sup>-1</sup> + B 150 mg.L<sup>-1</sup>; T8 – ácido caféico 100 mg.L<sup>-1</sup> + B 150 mg.L<sup>-1</sup>; T9 – ANA 200 mg.L<sup>-1</sup> + paclobutrazol 100 mg.L<sup>-1</sup> + B 150 mg.L<sup>-1</sup>; T10 – ANA 200 mg.L<sup>-1</sup> + ácido caféico 100 mg.L<sup>-1</sup> + B 150 mg.L<sup>-1</sup>; T11 – ANA 200 mg.L<sup>-1</sup> + ácido

caféico 100 mg.L<sup>-1</sup> + paclobutrazol 100 mg.L<sup>-1</sup> + B 150 mg.L<sup>-1</sup>; T12 – ácido caféico 100 mg.L<sup>-1</sup> + paclobutrazol 100 mg.L<sup>-1</sup> + B 150 mg.L<sup>-1</sup>. Após os tratamentos as estacas foram colocadas em bandejas de enraizamento contendo palha de arroz carbonizada como substrato, por 40 dias. O efeito dos tratamentos foi verificado através da % de enraizamento, % de estacas com calos e % de estacas mortas. Estacas tratadas com boro, ácido caféico, ANA + B, ANA e ácido caféico + B foram as que apresentaram as maiores porcentagens de enraizamento. Portanto, os co-fatores de enraizamento, boro e ácido caféico, estimulam a formação de raízes em estacas de eucalipto.

**Unitermos:** *Eucalyptus grandis*; auxinas; ácidos fenólicos; paclobutrazol; estacas; enraizamento

## Abstract

The purpose of the present work was to study the effects of auxin, boron, caffeic acid, and paclobutrazol alone or together on the rooting of herbaceous cuttings of *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. Herbaceous stems from the clone G0269 *Eucalyptus grandis* were collected from 3-year-old stock plants which were 10 cm in length and had 2 leaves on the apex portion. Two centimeters of the cutting bases were immersed for 18 hours in the following treatments: 1– water; 2– Boron (B) 150 mg.L<sup>-1</sup>; 3– NAA (naphthaleneacetic acid) 200 mg.L<sup>-1</sup>; 4– paclobutrazol 100 mg.L<sup>-1</sup>; 5– caffeic acid 100 mg.L<sup>-1</sup>; 6– NAA 200 mg.L<sup>-1</sup> + B 150 mg.L<sup>-1</sup>; 7– paclobutrazol 100 mg.L<sup>-1</sup> + B 150 mg.L<sup>-1</sup>; 8– caffeic acid 100 mg.L<sup>-1</sup> + B 150 mg.L<sup>-1</sup>; 9– NAA 200 mg.L<sup>-1</sup> + paclobutrazol 100 mg.L<sup>-1</sup> + B 150 mg.L<sup>-1</sup>; 10– NAA 200 mg.L<sup>-1</sup> + caffeic acid 100 mg.L<sup>-1</sup> + B 150 mg.L<sup>-1</sup>; 11– NAA 200 mg.L<sup>-1</sup> + caffeic acid 100 mg.L<sup>-1</sup> + paclobutrazol 100 mg.L<sup>-1</sup> + B 150 mg.L<sup>-1</sup>; 12– caffeic acid 100 mg.L<sup>-1</sup> + paclobutrazol 100 mg.L<sup>-1</sup> + B 150 mg.L<sup>-1</sup>. After treatment, the cuttings were planted in beds

for rooting, using carbonized rice coat as the rooting medium. They were then kept in the mist chamber for 40 days until collection. The evaluation of the treatments of *Eucalyptus grandis* cuttings was carried out on the basis of the following observations: degree of rooting and callusing of stem cuttings, survival of cuttings, and percentage of dead stem cuttings. The results showed that boron, caffeic acid, and NAA + B treatments were the best to promote the rooting of *Eucalyptus grandis* cuttings. Therefore, boron and caffeic acid rooting co-factors stimulate the root formation in *Eucalyptus grandis* cuttings.

**Key words:** *Eucalyptus grandis*; auxin; boron; cuttings; paclobutrazol; phenolic acids

## Introdução

*Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden é uma das espécies do gênero *Eucalyptus*, muito utilizada em programas de reflorestamento, na produção de carvão vegetal, papel e celulose, metanol e outros (Haag, 1983).

Dentre os métodos de propagação vegetativa a estaquia é, ainda, a técnica de maior viabilidade econômica para o estabelecimento de plantios clonais, pois permite, a um menor custo, a multiplicação de genótipos selecionados em curto período de tempo. Além disso, a estaquia tem a vantagem de não apresentar o problema de incompatibilidade, fato comum na enxertia (Paiva e Gomes, 1993).

Para acelerar e promover o enraizamento de estacas, Hartmann et al. (1997) sugerem o emprego das auxinas, os quais levam à uma maior porcentagem de formação de raízes, melhor qualidade das mesmas e uniformidade de enraizamento. Segundo os mesmo autores, atualmente o ácido indol-butírico (AIB) e o ácido naftaleno-acético (ANA) são as auxinas sintéticas mais efetivas e utilizadas no enraizamento de estacas.

A ação positiva das auxinas sobre o enraizamento de estacas está relacionada com a divisão das células do periciclo, levando a formação do primórdio radicular que cresce através da córtex e da epiderme (Taiz e Zeiger, 1998).

Hemberg (1951) verificou o efeito de vários íons sobre o enraizamento de estacas de *Phaseolus vulgaris* L., demonstrando que o boro, fornecido na forma de ácido bórico, aumentou a produção de raízes, enquanto estacas sem tratamento com boro não apresentaram raízes. Jarvis et al. (1983) trabalhando com estacas de *Phaseolus aureus* Roxb., explicam que o boro, direta ou indiretamente, pode aumentar a oxidação do AIA (ácido indolacético), portanto, diminuindo os níveis de auxinas efetivas. Dessa forma, controla as concentrações eficientes de auxinas no sítio de iniciação de raízes, permitindo o seu desenvolvimento e o seu crescimento.

Segundo Coll et al. (1992), os ácidos fenólicos são divididos em dois grupos, o grupo dos orto-di-hidroxifenóis e tri-hidroxifenóis que diminuem a atividade da AIA-oxidase, aumentando assim a concentração do AIA endógeno e o grupo dos mono-hidroxifenóis os quais aumentam a atividade da AIA-oxidase, diminuindo a concentração de AIA.

A ação dos ácidos fenólicos na promoção das raízes pode ser atribuída à proteção do AIA contra a destruição pelo sistema AIA-oxidase (Donoho et al., 1962). Essa possibilidade foi sugerida também por Hackett (1970), em *Hedera helix* L., na qual o fenol e o catecol mostraram sinergismo marcante com o AIA na promoção do enraizamento. Entretanto, o ANA, que não é afetado pela AIA-oxidase, foi tão efetivo sozinho quanto em combinação com catecol. Isso levou à conclusão de que o catecol estava protegendo o AIA da destruição pela enzima.

As giberelinas regulam a síntese de ácidos nucléicos e proteínas e podem suprimir a iniciação radicular nas estacas, interferindo nesses processos, particularmente na transcrição

(Hansen, 1994). O paclobutrazol é um composto que inibe a síntese de giberelinas nas plantas, através da inibição da oxidação do caureno à ácido caurenóico (Smith et al., 1990). Assim, o paclobutrazol por inibir a síntese de giberelinas e, conseqüentemente, diminuir sua concentração endógena, facilita a formação de raízes adventícias em estacas de muitas espécies, além de estimular o crescimento das mesmas (Ono e Rodrigues, 1996).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito da auxina sintética ANA, do boro, do ácido caféico e do paclobutrazol (PBZ) sobre a formação de raízes em estacas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden.

## Material e Métodos

O presente experimento foi conduzido em Casa de Vegetação com nebulização intermitente, no qual foram utilizados ramos herbáceos de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden, do clone G0269, oriundos de plantas matrizes de cerca de 3 anos, de Jardim Clonal, pertencente à Empresa Duraflora S.A., da unidade de Lençóis Paulista, SP. Foram utilizadas estacas apicais, com aproximadamente 10 cm de comprimento, com 2 folhas na porção apical da estaca.

Aproximadamente 2 cm da parte basal das estacas foram mergulhados por 18 horas nas soluções (tratamentos) e posteriormente tratadas com 0,2 g de Benomil + 0,1 g de Captan por litro de água, por 15 minutos, para prevenir o desenvolvimento de fungos.

Foram utilizados os seguintes tratamentos: T1- água destilada; T2- boro 150 mgL<sup>-1</sup>; T3- ANA (ácido naftaleno-acético) 200 mgL<sup>-1</sup>; T4- paclobutrazol (PBZ) 100 mgL<sup>-1</sup>; T5- ácido caféico (orto-dihidroxifenólico) 100 mgL<sup>-1</sup>; T6- ANA 200 mgL<sup>-1</sup> + boro 150 mgL<sup>-1</sup>; T7- PBZ 100 mgL<sup>-1</sup> + boro 150 mgL<sup>-1</sup>; T8- ácido caféico 100 mgL<sup>-1</sup> + boro 150mgL<sup>-1</sup>; T9- ANA 200 mgL<sup>-1</sup> + PBZ

100 mgL<sup>-1</sup> + boro 150 mgL<sup>-1</sup>; T10– ANA 200 mgL<sup>-1</sup> + ácido caféico 100 mgL<sup>-1</sup> + boro 150 mgL<sup>-1</sup>; T11– ANA 200 mgL<sup>-1</sup> + ácido caféico 100 mgL<sup>-1</sup> + PBZ 100 mgL<sup>-1</sup> + boro 150 mgL<sup>-1</sup>; T12– ácido caféico 100 mgL<sup>-1</sup> + PBZ 100 mgL<sup>-1</sup> + boro 150 mgL<sup>-1</sup>.

Após os tratamentos, as estacas foram colocadas em bandejas de enraizamento de 16 x 8 células, totalizando 108 células, de 12 cm de profundidade, contendo casca de arroz carbonizada como substrato, sendo então colocadas em casa de vegetação com nebulização intermitente, onde permaneceram por aproximadamente 40 dias até a sua coleta. Foram analisadas as seguintes características: porcentagem de estacas enraizadas; porcentagem de estacas com calos e porcentagem de estacas mortas.

O experimento foi instalado num delineamento inteiramente casualizado contendo 12 tratamentos com 3 repetições com 20 estacas cada, sendo os resultados submetidos à análise de variância (teste F), sendo as médias comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Como os resultados foram calculados em porcentagem, sofreram a transformação arc sen  $\sqrt{x + 0,5}$  (Pimentel-Gomes, 1990).

## Resultados e Discussão

Pode-se verificar pela tabela 1 que ocorreu efeito dos tratamentos sobre a porcentagem de estacas enraizadas, porcentagem de estacas com calos, porcentagem de estacas vivas e porcentagem de estacas mortas. Os tratamentos das estacas com boro 150 mgL<sup>-1</sup> (T2), NAA 200 mgL<sup>-1</sup> (T3), ácido caféico 100 mgL<sup>-1</sup> (T5), NAA 200 mgL<sup>-1</sup> + B 150 mgL<sup>-1</sup> (T6) e ácido caféico 100 mgL<sup>-1</sup> + B 150 mgL<sup>-1</sup> (T8) foram aqueles que apresentaram a maior porcentagem de estacas enraizadas, quando comparados com a testemunha (Tabela 1).

TABELA 1 – Análise de variância (teste F) e comparação das médias pelo teste Tukey dos resultados obtidos para % de estacas enraizadas, % de estacas com calos e % de estacas mortas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden tratadas com ANA e co-fatores de enraizamento.

Tratamentos	% enraizadas	% calos	% mortas
T1- Testemunha	25,0 d	51,6 a	16,6 abc
T2- Boro 150 mg.L <sup>-1</sup>	85,0 a	10,0 b	3,3 c
T3- ANA 200 mg.L <sup>-1</sup>	76,6 ab	16,6 ab	6,6 bc
T4- PBZ 100 mg.L <sup>-1</sup>	11,6 d	53,3 a	13,3 abc
T5- Ác.caféico 100 mg.L <sup>-1</sup>	83,3 a	10,0 b	5,0 bc
T6- ANA 200 mg.L <sup>-1</sup> + B 150 mg.L <sup>-1</sup>	85,0 a	11,6 ab	1,6 c
T7- PBZ 100 mg.L <sup>-1</sup> + B 150 mg.L <sup>-1</sup>	36,6 cd	33,3 ab	15,0 abc
T8- Ác.caféico 100 mg.L <sup>-1</sup> + B 150 mg.L <sup>-1</sup>	70,0 abc	21,6 ab	5,0 bc
T9- ANA 200 mg.L <sup>-1</sup> + PBZ 100 mg.L <sup>-1</sup> + B 150mg.L <sup>-1</sup>	25,0 d	21,6 ab	41,6 a
T10- ANA 200 mg.L <sup>-1</sup> + ác.caféico 100 mg.L <sup>-1</sup> + B 150 mg.L <sup>-1</sup>	16,6 d	43,3 ab	28,3 ab
T11- ANA 200 mg.L <sup>-1</sup> +ác.caféico 100 mg.L <sup>-1</sup> +PBZ 100 mg.L <sup>-1</sup> + B 150mg.L <sup>-1</sup>	40,0 bcd	26,6 ab	20,0 abc
T12- Ác. caféico 100 mg.L <sup>-1</sup> + PBZ 100 mg.L <sup>-1</sup> + B 150 mg.L <sup>-1</sup>	30,0 d	35,0 ab	28,3 ab
F	15,12*	3,77*	6,68*
C.V. (%)	17,41%	30,76%	31,72%

\* significativo ao nível de 1% de probabilidade

Letras seguidas de mesma letra, não diferem significativamente entre si.

ANA = ácido naftaleno-acético;

PBZ = paclobutrazol;

B = boro

Tratamentos isolados de Boro (T2), ANA (T3) ou ácido caféico (T5) apresentaram alta porcentagem de enraizamento. Combinação de quaisquer das três substâncias entre si (T6 e T8) não aumentaram a porcentagem de enraizamento em relação ao tratamento isolado com cada uma destas substâncias ou, então, diminuíram a porcentagem de enraizamento com a combinação das três substâncias (ANA 200 mgL<sup>-1</sup> + ácido caféico 100 mgL<sup>-1</sup> + B 150 mgL<sup>-1</sup> – T10).

Tratamento isolado com paclobutrazol (T4) não aumentou a porcentagem de enraizamento em relação à testemunha (T1) e quando aplicado em combinação com Boro (T7), com ANA e Boro (T9) ou com ácido caféico (T12) inibiu o efeito destas substâncias na facilitação do enraizamento em estacas.

Segundo Jarvis (1986), a atividade da AIA-oxidase é controlada pelos ácidos fenólicos (di-hidroxifenóis inibem a AIA-oxidase) aumentando os níveis de AIA, o que é ideal para o estágio da organização do primórdio radicular.

Jarvis et al. (1983), trabalhando com estacas de *Phaseolus aureus* Roxb., explicam que o boro, direta ou indiretamente, pode aumentar a oxidação do AIA (ácido indol-acético), portanto, diminuindo os níveis de auxinas efetivas. Dessa forma, controla as concentrações eficientes de auxinas no sítio de iniciação de raízes, permitindo o seu desenvolvimento e o seu crescimento. Portanto, pode-se sugerir que o enraizamento de estacas de eucalipto do clone utilizado pode ser estimulado, diretamente através de tratamentos com auxinas ou então, tratamentos que metabolicamente levem ao aumento dos níveis de auxinas endógenas, como é o caso do boro e do ácido caféico.

O paclobutrazol, um inibidor da síntese de giberelina (Rademacher et al., 1984), parece manter os níveis baixos de giberelina nas estacas, que são consideradas inibidoras do enraizamento (Hartmann et al., 1997). Segundo Wiesman e Lavee (1995), paclobutrazol aplicado conjuntamente com auxinas

exógenas, aumenta a capacidade de enraizamento das estacas, aumentando a formação de raízes. Ribas (1997) trabalhando com estacas de eucalipto, obteve alta porcentagem de enraizamento quando estas foram tratadas com AIB  $8.000 \text{ mg.L}^{-1}$  + paclobutrazol a  $100 \text{ mg.L}^{-1}$ . No entanto, no presente experimento não foi verificado o efeito positivo do paclobutrazol no enraizamento. É possível que estacas de eucalipto nas condições deste experimento não possuem altos níveis de GA endógeno que inibiriam a formação de raízes. Mas, pode-se afirmar mais uma vez, que tais estacas necessitam do aumento da concentração de auxinas, que vão estimular a formação de raízes.

Ao contrário dos resultados obtidos para porcentagem de enraizamento, pode-se verificar que o tratamento das estacas com paclobutrazol (T4) e a testemunha (T1) apresentaram a maior porcentagem de estacas com calos (estágio inicial da formação de raízes), em comparação aos tratamentos T2 (Boro  $150 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e T5 (ácido caféico  $100 \text{ mg.L}^{-1}$ ) (Tabela 1). Os tratamentos com boro, ANA + B e ácido caféico, os quais levaram a uma alta porcentagem de enraizamento, apresentaram as menores porcentagens de estacas com calos. Assim, a alta porcentagem de estacas com calos em determinados tratamentos e a baixa porcentagem de enraizamento nos mesmos tratamentos e vice-versa, leva a sugerir que os tratamentos que apresentaram alta porcentagem de estacas com calos, se fossem mantidos por mais alguns dias no substrato, poderiam apresentar raízes.

Embora o tratamento 9 (ANA + paclobutrazol + B) tenha apresentado porcentagem de estacas mortas bem maior que os demais tratamentos, parecendo ser o de maior fitotoxicidade, esta maior porcentagem não resistiu ao teste de significância, quando este tratamento foi comparado a outros, sendo o grau de fitotoxicidade do T9 semelhante a T1, T4, T7, T10, T11 e T12, provavelmente devido ao alto coeficiente de variação para este parâmetro.

Através dos resultados obtidos e nas condições do presente experimento, pode-se concluir que o enraizamento de estacas de eucalipto do clone utilizado pode ser estimulado diretamente através de tratamentos com auxinas sintéticas ou, então, boro ou ácido caféico.

### **Referências Bibliográficas**

Coll, J. B.; Rodrigo, G. N.; García, B. S.; Tamés, R. S. 1992. **Fisiologia Vegetal**. 6ª ed. Ediciones Pirámide S.A., Madrid, p. 416-431.

Donoho, C. W.; Mitchell, A. E.; Sell, H. N. 1962. Enzymatic destruction of C<sup>14</sup> labelled indoleacetic acid and naphthaleneacetic acid by developing apple and peach seeds **Proceedings of American Society of Horticultural Science**, **80**: 43-90.

Haag, H. P. 1983. **Nutrição mineral do Eucalyptus, Pinus, Araucaria e Gmelina no Brasil**. Fundação Cargill, Campinas, 101 pp.

Hackett, W. P. 1970. The influence of auxin, catechol and methanolic tissue extract on root initiation in aseptically cultured shoot apice of the juvenile and adult forms of *Hedera helix*. **Journal of American Society of Horticultural Science**, **95**: 398.

Hansen, J. 1994. Influence of gibberellins on adventitious root formation. In: Davis, T. D.; Haissig, B. E. (eds). **Biology of adventitious root formation**. Plenum Press, New York, 343 pp.

Hartmann, H. T.; Kester, D. E.; Davis Jr, F. T., Geneve, R. L. 1997. **Plant propagation: principles and practices**. 6.ed. Englewood Clippings/Prentice-Hall, New York, 770 pp.

Hemberg, T. 1951. Rooting experiments with hypocotyls of *Phaseolus vulgaris* L. **Physiologia Plantarum**, **4**: 358-369.

Jarvis, B. C. 1986. Endogenous control of adventitious rooting in non-woody species. *In*: Jackson, M.B. (ed). **New root formation in plants and cuttings**. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, p. 191-221.

Jarvis, B. C.; Ali, A. H. N.; Shaheed, A. I. 1983. Auxin and boron in relation to the response and ageing of mung bean cuttings. **New Phytologist**, **95**: 509-518.

Ono, E. O.; Rodrigues, J. D. 1996. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. FUNEP, Jaboticabal, 83 pp.

Paiva, H. N.; Gomes, J. M. 1993. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 40 pp.

Pimentel-Gomes, F. 1990. **Curso de estatística experimental**. 13.ed. Nobel, Piracicaba, 467 pp.

Rademacher, W.; Jung, J.; Graebe, J. E.; Schwenem, L. 1984. On the mode of action of tetcyclasis and triazole growth retardants. **Plant Growth Monography**, **11**: 1-11.

Ribas, K. C. 1997. **Interações entre auxinas e co-fatores do enraizamento na promoção do sistema radicular, em estacas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, Brasil, 150 pp.

Smith, E. F.; Roberts, A. V.; Mottley, J. 1990. The preparation in vitro of chrysanthemum for transplantation to soil. 2. Improved resistance to desiccation conferred by paclobutrazol. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, **21**: 133-140.

Taiz, L.; Zeiger, E. 1998. **Plant physiology**. The Benjamin Cummings Publishing Company, Redwood City, 616 pp.

Wiesman, Z.; Lavee, S. 1995. Enhancement of IBA stimulatory effect on rooting of olive cultivar stem cuttings. **Scientia Horticulturae**, **62**: 189-198.