

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DANIELA MACEDO DE LIMA

**PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE ESPINHEIRA-SANTA (*Maytenus  
ilicifolia* Mart. ex Reissek)**

CURITIBA

2008

DANIELA MACEDO DE LIMA

**PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE ESPINHEIRA-SANTA (*Maytenus  
ilicifolia* Mart. ex Reissek)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antonio Biasi

Co-Orientadores: Prof. Dr. Flavio Zanette  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Katia Christina  
Zuffellato-Ribas

CURITIBA

2008



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E  
FITOSSANITARISMO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA  
PRODUÇÃO VEGETAL

## PARECER

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, reuniram-se para realizar a argüição da Tese de DOUTORADO, apresentada pela candidata **DANIELA MACEDO DE LIMA**, sob o título “**PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE ESPINHEIRA-SANTA (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek)**”, para obtenção do grau de Doutor em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

Após haver analisado o referido trabalho e argüido a candidata são de parecer pela "**APROVAÇÃO**" da Tese.

Curitiba, 28 de Julho de 2008.

Dr. Ivar Wendling  
Primeiro Examinador

Professor Dr. Ruy Inácio Neiva de Carvalho  
Segundo Examinador

Professora Dra. Katia Christina Zuffellato Ribas  
Terceira Examinadora

Professor Dr. Flavio Zanette  
Quarto Examinador

Professor Dr. Luiz Antonio Biasi  
Presidente da Banca e Orientador

Aos meus pais, Zeila Maria e José Bernardino.  
Ao meu irmão de coração Edson e sua família.  
Aos meus irmãos Patrícia e Fábio.  
Por todo amor, carinho e apoio incondicionais em todos os momentos.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Cada colaboração foi fundamental para a conclusão deste trabalho; assim, agradeço a todos que participaram direta ou indiretamente desta realização, em especial:

A Deus por me iluminar em cada momento de minha vida, me dar forças e me fazer acreditar que com amor, esforço, dedicação e persistência tudo é possível.

À Universidade Federal do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Produção Vegetal pela oportunidade.

Ao meu orientador Prof. Dr. Luiz Antonio Biasi pela oportunidade de realizar este trabalho, pela amizade, auxílio em todos os momentos, conselhos técnicos e pessoais sempre oportunos, coerentes e bem-vindos. E ainda pela acolhida carinhosa de sua esposa e filhos.

À minha co-orientadora Profa. Dra. Katia Christina Zuffellato-Ribas pelos conselhos e auxílio técnicos e profissionais, materiais cedidos e pelo suporte psicológico durante todos esses anos. E acima de tudo pela amizade, apoio, aventuras, almoços, confraternizações, hospedagem, passeios e viagens. Ah, sem esquecer, é claro, do cargo a mim concedido, o de sheep sitter...

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Flavio Zanette pelos ensinamentos, idéias e sugestões.

A todos os professores da Pós-Graduação em Agronomia, Produção Vegetal, e principalmente às Professoras Francine Lorena Cuquel e Marguerite Quoirin, pelo constante auxílio, críticas e sugestões durante a confecção de artigos e resumos.

Ao Prof. Dr. Henrique Soares Koehler pelos constantes auxílios estatísticos.

À Coordenadora e ao Vice-coordenador do Curso de Pós-Graduação, Profa. Francine e Prof. Biasi, e aos professores que compõem o Colegiado de Curso do Programa pelo apoio.

Às Profa. Dra. Maria Cecília Chiara Moço e à Profa. Dra. Cleusa Bona pela disponibilização dos materiais e do Laboratório de Microtécnica, Departamento de Botânica, Universidade Federal do Paraná e pelo auxílio nas análises anatômicas.

Ao biólogo Nilson Belém Filho pelo auxílio e pela paciência durante o preparo do material vegetal e confecção das lâminas.

À colega Juliana Lischka Sampaio Mayer pela boa vontade, assistência nas análises anatômicas e preparo de pranchas, inclusive pelo auxílio on-line.

Ao funcionário Sr. Rainério Ferrarini pela paciência, pelo constante cuidado com o material vegetal e auxílio na instalação e avaliação dos experimentos.

À funcionária Maria Emília Kudla pela amizade, paciência, auxílio na secagem de substrato, na coleta de material vegetal, no preparo das estacas e nas avaliações e pelos materiais concedidos. E também pelo apoio constante nos projetos da Representação Discente, na organização de confraternizações e pela companhia nos almoços.

À secretária da Pós-Graduação Lucimara Antunes pela amizade, auxílio, apoio em todos os projetos da Representação Discente, companheirismo, pelos papos e divertidos almoços compartilhados, e também pelo presente lindo e fofo...

À funcionária e mãe do coração Lurdinha da Silva Wos pelo carinho, apoio, paciência, conselhos e experiências trocadas.

Às amigas Giovana e Luciana, colegas, amigas e companheiras, de aulas, de laboratório, de experimentos, de resumos e artigos, de piadas e risadas, de alegrias e angústias, enfim de todos os momentos.

À Marlene de Lurdes Ferronato pela amizade, idéias e trabalhos compartilhados e também pela doação do substrato fibra de casca de coco.

À Sandra Regina Cabel pela amizade, conselhos, dicas e soluções estoque compartilhadas e aos demais colegas do Laboratório de Micropropagação.

Ao amigo Jorge Jamhour pelas conversas, almoços e histórias contadas.

Ao colega Wanderley do Amaral pelo constante fornecimento de substrato (esfagno) para a realização de experimentos.

Aos demais colegas das turmas de 2004, 2005, 2006 e 2007.

Às queridas Zuffelletes pela amizade e companheirismo, em especial a Áurea, pela amizade, idéias e apoio nos projetos relacionados à representação e aos alunos do Curso.

Às estagiárias Carmem Luisa Silva e Marlice Ritter, Ana, Diana, Francine, Márcia, Marina, Eliana, Marivel, Sibebe e aos estagiários Guilherme e Odirlei e demais alunos pelo auxílio prestado na instalação dos experimentos e no desenvolvimento do projeto.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro concedido, tornando possível a realização deste trabalho.

“As plantas são a saúde das nações...”

Apocalipse 22-2

“Sejam quais forem os resultados,  
com êxito ou não, o importante  
é que no final cada um possa  
dizer: Fiz o que pude!”

Pasteur

## RESUMO

A espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* - Celastraceae) é uma planta medicinal nativa da região Sul do Brasil, com ação antiulcerogênica comprovada. A produção de mudas de espinheira-santa ocorre por via seminal, sendo as sementes consideradas ortodoxas, apresentando boa germinação logo após a colheita dos frutos. Entretanto, quando armazenadas em condições ambientais, mantêm alta capacidade de germinação por 60 dias. Além disso, as mudas oriundas de sementes possuem grande variabilidade quanto à morfologia e ao teor de metabólitos secundários. O presente trabalho consistiu de quatro experimentos utilizando diferentes técnicas de propagação vegetativa, com o intuito de viabilizar a produção de mudas de espinheira-santa. O primeiro experimento realizado foi o de estaquia semilenhosa nas quatro estações do ano (abr./2005 a jan./2006), com a aplicação de diferentes concentrações de ácido indol butírico (IBA), em solução e em pó. Análises anatômicas e microquímicas foram realizadas. A estação mais promissora para o enraizamento foi o verão/2006, com 29,17% (1500 mgkg<sup>-1</sup> e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e 62,50% (testemunha) de estacas enraizadas, aos 180 e aos 365 dias de instalação do experimento, respectivamente, em função da poda realizada nas plantas seis meses antes da coleta dos ramos. Foi detectada a presença de uma camada quase contínua de fibras e braquiesclereídes relacionada ao impedimento da iniciação radicial. O segundo experimento realizado foi o de miniestaquia em quatro meses do ano (novembro/2006, março, junho e setembro/2007) com uso de diferentes concentrações de IBA em solução alcoólica. A maior porcentagem média de enraizamento foi obtida para miniestacas coletadas no mês de junho/2007 (78,13%), seguida pelos meses de novembro/2006 (66,46%) e setembro/2007 (63,75%), aos 90 dias após a instalação. Entretanto, o sistema radicial de miniestacas coletadas no mês de setembro/2007 apresentou melhor qualidade e uniformidade das raízes (8,71 raízes por miniestaca e comprimento médio de 2,30 cm). No mês de março/2007 foram obtidos os mais baixos percentuais de enraizamento (44,79%). A aplicação de IBA apresentou pouca influência no enraizamento de espinheira-santa, não sendo necessária para a formação de raízes em material juvenil. O terceiro experimento realizado foi o de alporquia no outono/2005 e no verão/2006, com a aplicação de diferentes concentrações de IBA veiculado em pasta de lanolina, utilizando esfagno, fibra de casca de coco e vermiculita como substratos. Análises anatômicas foram realizadas. Não houve enraizamento dos alporques realizados no outono/2005, enquanto que no verão/2006 a porcentagem de enraizamento foi muito baixa (1,11%). A maior porcentagem média de alporques com calos foi verificada nos substratos fibra de casca de coco (49,17%) e vermiculita (26,67%), no outono/2005 e verão/2006, respectivamente. As porcentagens de estacas mortas foram superiores no substrato esfagno, 85,00 e 89,17%, no outono/2005 e verão/2006, respectivamente. Não foi possível observar a formação de primórdios radiciais. O quarto experimento foi o de mergulhia de cepa de espinheira-santa sem aplicação de auxina, realizada no verão/2006. O número médio de brotações formadas por planta de espinheira-santa foi de 2,17, com enraizamento de 67,31% das brotações emitidas e número médio de raízes por brotação de 6,37. A sobrevivência das mudas aos 165 dias após o transplante para os vasos foi de 45,71%. A propagação vegetativa de espinheira-santa por meio das técnicas de

estaquia, miniestaquia e mergulhia de cepa é viável, sendo a miniestaquia a técnica mais promissora para a produção de mudas da espécie.

Palavras-chave: Enraizamento. Estaquia. Miniestaquia. Alporquia. Mergulhia de cepa.

## ABSTRACT

### VEGETATIVE PROPAGATION OF *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek

*Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) is a native medicinal plant of Southern Brazil, with proved antiulcer action. The seedlings production of *M. ilicifolia* normally occurs by seeds, and they are considered orthodoxal, presenting good germination immediately after the fruits harvest. Meanwhile, when the seeds are stored in environmental conditions, keep a higher germination capacity for 60 days. Moreover, the seedlings originated from seeds have a great variability in morphology and in secondary metabolites level. This work was constituted of four experiments using different techniques of vegetative propagation, with the aim to turn feasible the seedlings production of *M. ilicifolia*. The first experiment was done with semihardwood cutting in the four annual seasons (April/2005 to January/2006), with application of indolebutyric acid concentrations (IBA), in alcoholic solution and in powder. Anatomic and micro chemical analyses were conducted. The best season for rooting was the Summer/2006, with 29.17 (1500 mgkg<sup>-1</sup> and 3000 mgL<sup>-1</sup>) and 62.50% (control) of rooting, in both 180 and 365 days after experiment installation, respectively, in function of plant stem trimming 6 months before the branches harvest. It was detected the presence of an almost continuous layer of fibers and sclereids, related to the impediment of initial root growth. The second experiment was done with minicuttings in four year month's (November/2006, March, June and September/2007), using concentrations of IBA alcoholic solution. Higher mean percentage of rooting was obtained in minicuttings collected in June/2007 (78.13%), followed by November/2006 (66.46%) and September/2007 (63.75%). However, the root system of minicuttings collected in September/2007 presented better root quality and uniformity (8.71 roots per plant and mean length of 2.30 cm). On March/2007 were obtained the lowest rooting indexes (44.79%). The IBA application presented little influence in *M. ilicifolia*, does not being necessary for root formation in juvenile material. The third experiment was done with air layering in the Autumn/2005 and Summer/2006, with IBA applications using as carrier lanolin paste. It was used sphagnum, coir dust and vermiculite as substrates. Anatomic analyses were done. It was not rooting in air layers when conducted in the Autumn/2005, while in the Summer/2006 rooting percentage was very low (1.11%). Higher mean percentage of air layers with callus was verified in coir dust (49.17%) and vermiculite (26.67%) substrates, in the Autumn/2005 and Summer/2006, respectively. The necrosis indexes were higher in sphagnum substrate, 85.00 and 89.17%, in the Autumn/2005 and Summer/2006, respectively. It was not possible to observe root primordial formation. The fourth experiment was done with stool layering of *M. ilicifolia* without auxin application, conducted in the Summer/2006. The mean number of shoots formed by plants was of 2.17, with rooting of 67.31% of the emitted shoots. The mean root number by shoot of 6.37. The seedlings survival at 165 days after transplanting into the pots was of 45.71%. The vegetative propagation of *M. ilicifolia* by cuttings, minicuttings and stool layering is feasible. Minicutting is the more promising technique for seedlings production of *M. ilicifolia*.

Key words: Rooting. Cutting. Minicutting. Air layering. Stool layering.

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - Estaquia de espinheira-santa. A. Plantio de 6 anos de idade, localizado na Estação Experimental do Canguiri, Pinhais-PR. B. Planta matriz. C. Coleta de ramos. D. Confecção das estacas. E. Estacas plantadas em tubetes e mantidas em câmara de nebulização. UFPR, Curitiba – PR, 2006..... 38
- FIGURA 2 - Estacas de espinheira-santa enraizadas. A. Avaliação de estacas coletadas no verão/2006 aos 365 dias após a estaquia (testemunha talco). B. Detalhe do sistema radicial formado. UFPR, Curitiba – PR, 2007 ..... 46
- FIGURA 3 - Secções transversais da base das estacas caulinares semilenhosas de *M. ilicifolia*. 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), carena (cr), 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..... 64
- FIGURA 4 - Secções transversais da base das estacas caulinares semilenhosas de *M. ilicifolia*. Teste microquímico para presença de amido. A. Outono. B. Inverno. C. Primavera. D. Verão. Visualizar células do córtex (→) e células dos raios do xilema (←). Barra = 200 µm. UFPR, Curitiba – PR, 2006..... 67
- FIGURA 5 - Secções transversais da base das estacas caulinares semilenhosas de *M. ilicifolia*. Teste microquímico 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..... 68
- FIGURA 6 - Secções transversais da base das estacas caulinares semilenhosas de *M. ilicifolia*. A. Visualizar a conexão vascular (→) da raiz adventícia, células 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..... 71

|             |  |     |
|-------------|--|-----|
| FIGURA 7 -  | Germinação das sementes e transplante de mudas de espinheira-santa A. Aos 28 dias após a semeadura. B. Aos 40 dias após a semeadura. C. Aos 70 dias após a semeadura D. Detalhe da muda a ser transplantada. E. Transplante aos 90 dias após a semeadura. F. Mudas aos 195 dias após o transplante. G. Poda para conversão das mudas em minicepas.....   | 84  |
| FIGURA 8 -  | Miniestaquia de espinheira-santa. A. Minicepas com brotações em casa-de-vegetação. B. Detalhe das brotações na minicepa. C. Coleta de brotações. D. Confecção das miniestacas. E. Experimento instalado. UFPR, Curitiba – PR, 2006.....  | 86  |
| FIGURA 9 -  | Miniestacas de espinheira-santa coletadas em novembro/2006. A. Miniestaca enraizada aos 90 dias. B. Detalhe do sistema radicial. C. Miniestaca com calo e raiz. D. Miniestaca com novo par de folhas expandido. UFPR, Curitiba – PR, 2007.....   | 94  |
| FIGURA 10 - | Alporquia de espinheira-santa. A. Seleção do ramo para a confecção do alporque. B. Medida da extremidade do ramo até a área de desfolha. C. Desfolha da região para a realização do anelamento. D. Região desfolhada. E. Aplicação de lanolina anidra com diferentes concentrações de IBA sobre a região anelada. F. Colocação de substrato fibra de casca de coco. UFPR, Pinhais – PR, 2006.....  | 120 |
| FIGURA 11 - | Alporquia de espinheira-santa. A. Substrato esfagno. B. Substrato vermiculita. C. Colocação do plástico envolvendo o substrato. D. Alporque finalizado. E. Planta de espinheira-santa contendo alporques. F. Alporques em plantas de espinheira-santa da área cultivada na Estação experimental do Canguiri. UFPR, Pinhais – PR, 2006.....   | 121 |
| FIGURA 12 - | Alporquia de espinheira-santa. A. Avaliação aos 365 dias (janeiro/2007). B. Ramo entumescido pelo acúmulo de reservas na região superior ao anelamento e com a presença de calos (marrom-alaranjados). C. Alporque apresentando entumescimento e calos. D. Alporque com calos e raiz. UFPR, Pinhais – PR, 2007.....  | 126 |
| FIGURA 13 - | Secções transversais da região da incisão por anel de alporques de <i>M. ilicifolia</i> aos 365 dias após a instalação do experimento (janeiro/2007). A. Visualizar epiderme (ep), camadas de células parenquimáticas do tecido caloso (c) e camada de fibras pericíclicas e braquiesclereídes (→). Barra = 200 µm. B. Visualizar floema (fl), xilema (x) e detalhe das fibras pericíclicas e braquiesclereídes dispersos no córtex (→). Barra = 100 µm C. Visualizar tecido caloso e a presença da ranhura ou carena (cr) presente nos ramos novos de <i>Maytenus ilicifolia</i> . Barra = 200 µm. UFPR, Curitiba – PR, 2007..... | 135 |

|  |     |
|--|-----|
| FIGURA 14 - Mergulhia de cepa de espinheira-santa. A. Planta de espinheira-santa com novas brotações, dois meses após a poda drástica. B. Realização da amontoa. C. Amontoa realizada. D. Local do plantio. E. Colocação de cobertura morta sobre a amontoa. UFPR, Curitiba – PR, 2007.....  | 147 |
| FIGURA 15 - Mergulhia de cepa de espinheira-santa. A. Plantio de espinheira-santa aos 365 dias após a amontoa. B. Brotações enraizadas. C. Muda formada após a separação da planta matriz. D. Detalhe do sistema radicial. UFPR, Curitiba – PR, 2007.....  | 150 |
| FIGURA 16 - Sobrevivência de mudas de espinheira-santa oriundas da mergulhia de cepa. A. Mudas de espinheira-santa aos 135 dias após o transplantio. B. Alongamento caulinar aos 135 dias. C. Crescimento dos ramos laterais das mudas aos 165 dias após o transplantio. D. Detalhe do crescimento dos ramos laterais e dos rebentos. UFPR, Curitiba – PR, 2007..... | 154 |
| FIGURA 17 - Média da porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> enraizadas, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico nas quatro estações do ano, avaliadas aos 180 dias. UFPR, Curitiba – PR, 2005 e 2006.....   | 159 |
| FIGURA 18 - Média da porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> enraizadas, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico nas quatro estações do ano, avaliadas aos 365 dias. UFPR, Curitiba – PR, 2005 a 2007.....   | 160 |
| FIGURA 19 - Média da porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> enraizadas, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico nas quatro estações do ano, avaliadas aos 180 e aos 365 dias. UFPR, Curitiba – PR, 2005 a 2007.....   | 161 |
| FIGURA 20 - Média geral da porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> mortas, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico nas quatro estações do ano, avaliadas aos 180 e aos 365 dias. UFPR, Curitiba – PR, 2005 a 2007.....   | 162 |
| FIGURA 21 - Média da porcentagem de miniestacas de <i>M. ilicifolia</i> enraizadas, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico nos quatro meses do ano. UFPR, Curitiba – PR, 2006 e 2007.....  | 163 |
| FIGURA 22 - Porcentagem geral de enraizamento de estacas semilenhosas e de miniestacas de <i>M. ilicifolia</i> , nas quatro estações do ano do ano. UFPR, Curitiba – PR, 2005 a 2007.....  | 163 |

FIGURA 23 - Média geral da porcentagem de enraizamento, sobrevivência (vivas e calos) e mortalidade de estacas semilenhosas, miniestacas, alporques e brotações de cepa de *M. ilicifolia*. UFPR, Curitiba – PR, 2005 a 2007..... 164

## LISTA DE TABELAS

|            |  |    |
|------------|--|----|
| TABELA 1 - | Porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> enraizadas, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e nas quatro estações do ano, avaliadas aos 180 dias. UFPR, Curitiba – PR, 2005 e 2006.....                | 43 |
| TABELA 2 - | Porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> 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.....                | 45 |
| TABELA 3 - | Número médio de raízes formadas por estaca de <i>M. ilicifolia</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e nas quatro estações do ano, avaliadas aos 180 dias. UFPR, Curitiba – PR, 2005 e 2006.....      | 51 |
| TABELA 4 - | Número médio de raízes formadas por estaca de <i>M. ilicifolia</i> , 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.....      | 52 |
| TABELA 5 - | Comprimento médio de raízes formadas por estaca de <i>M. ilicifolia</i> , sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e nas quatro estações do ano, avaliadas aos 180 dias. UFPR, Curitiba – PR, 2005 e 2006..... | 54 |
| TABELA 6 - | Comprimento médio de raízes formadas por estaca de <i>M. ilicifolia</i> , 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..... | 55 |
| TABELA 7 - | Porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> vivas, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e nas quatro estações do ano, avaliadas aos 180 dias. UFPR, Curitiba – PR, 2005 e 2006.....                     | 56 |
| TABELA 8 - | Porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> vivas, 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.....                     | 57 |
| TABELA 9 - | Porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> com calos, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e nas quatro estações do ano, avaliadas aos 180 dias. UFPR, Curitiba – PR, 2005 e 2006.....                 | 58 |

|   |     |
|---|-----|
| TABELA 10 - Porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> com calos, 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.....      | 59  |
| TABELA 11 - Porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> mortas, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e nas quatro estações do ano, avaliadas aos 180 dias. UFPR, Curitiba – PR, 2005 e 2006.....         | 60  |
| TABELA 12 - Porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> 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.....         | 62  |
| TABELA 13 - Produtividade média de brotações de <i>M. ilicifolia</i> por minicepa, em cada coleta, nos anos de 2006 e 2007.....   | 89  |
| TABELA 14 - Porcentagem de miniestacas de <i>M. ilicifolia</i> enraizadas sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e em quatro meses do ano. UFPR, Curitiba – PR, 2006 e 2007.....                              | 92  |
| TABELA 15 - Número médio médio de raízes formadas por miniestaca de <i>M. ilicifolia</i> sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e em quatro meses do ano . UFPR, Curitiba – PR, 2006 e 2007.....              | 98  |
| TABELA 16 - Comprimento médio de raízes formadas por miniestacas <i>M. ilicifolia</i> sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e em quatro meses do ano. UFPR, Curitiba – PR, 2006 e 2007.....                  | 101 |
| TABELA 17 - Porcentagem de miniestacas de <i>M. ilicifolia</i> viva sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e em quatro meses do ano. UFPR, Curitiba – PR, 2006 e 2007.....                                    | 103 |
| TABELA 18 - Porcentagem de média de miniestacas de <i>M. ilicifolia</i> com calos sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e em quatro meses do ano. UFPR, Curitiba – PR, 2006 e 2007.....                      | 104 |
| TABELA 19 - Porcentagem de miniestacas de <i>Maytenus ilicifolia</i> mortas sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e em quatro meses do ano. UFPR, Curitiba – PR, 2006 e 2007.....                            | 105 |
| TABELA 20 - Porcentagem de alporques de <i>M. ilicifolia</i> com calos sob efeito de diferentes substratos e concentrações de ácido indol butírico, avaliados 365 dias após a instalação (junho/2005). UFPR, Curitiba – PR, 2006..... | 125 |

|   |     |
|---|-----|
| TABELA 21 - Porcentagem de alporques de <i>M. ilicifolia</i> com calos sob efeito de diferentes substratos e concentrações de ácido indol butírico, avaliados 365 dias após a instalação (janeiro/2006). UFPR, Curitiba – PR, 2007..... | 127 |
| TABELA 22 - Porcentagem de alporques de <i>M. ilicifolia</i> vivos sob efeito de diferentes substratos e concentrações de ácido indol butírico, avaliados 365 dias após a instalação (junho/2005). UFPR, Curitiba – PR, 2006.....       | 130 |
| TABELA 23 - Porcentagem de alporques de <i>M. ilicifolia</i> vivos sob efeito de diferentes substratos e concentrações de ácido indol butírico, avaliados 365 dias após a instalação (janeiro/2006). UFPR, Curitiba – PR, 2007.....     | 131 |
| TABELA 24 - Porcentagem de alporques de <i>M. ilicifolia</i> mortos sob efeito de diferentes substratos e concentrações de ácido indol butírico, avaliados 365 dias após a instalação no (junho/2005). UFPR, Curitiba – PR, 2006.....   | 132 |
| TABELA 25 - Porcentagem de alporques de <i>M. ilicifolia</i> mortos sob efeito de diferentes substratos e concentrações de ácido indol butírico, avaliados 365 dias após a instalação (janeiro/2006). UFPR, Curitiba – PR, 2007.....    | 133 |
| TABELA 26 - Comparação entre os melhores resultados obtidos com as técnicas de propagação vegetativa utilizadas para o enraizamento de espinheira-santa e suas principais características. UFPR, Curitiba – PR, 2005 a 2007.....        | 165 |

## LISTA DE ANEXOS

- ANEXO 1 - Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* com calos, vivas e mortas, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no outono de 2005 e avaliadas aos 180 dias após a instalação do experimento..... 169
- ANEXO 2 - Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* enraizadas, número médio de raízes formadas por estaca e comprimento médio das três maiores raízes, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no inverno de 2005 e avaliadas aos 180 dias após a instalação do experimento..... 169
- ANEXO 3 - Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* com calos, vivas e mortas, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no inverno de 2005 e avaliadas aos 180 dias após a instalação do experimento..... 170
- ANEXO 4 - Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* enraizadas, número médio de raízes formadas por estaca e comprimento médio das três maiores raízes para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas na primavera de 2005 e avaliadas aos 180 dias após a instalação do experimento..... 170
- ANEXO 5 - Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* com calos, vivas e mortas, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas na primavera de 2005 e avaliadas aos 180 dias após a instalação do experimento..... 171
- ANEXO 6 - Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* enraizadas, número médio de raízes formadas por estaca e comprimento médio das três maiores raízes, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no verão de 2006 e avaliadas aos 180 dias após a instalação do experimento..... 171

|            |   |     |
|------------|---|-----|
| ANEXO 7 -  | Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> com calos, vivas e mortas, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL <sup>-1</sup> ) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no verão de 2006 e avaliadas aos 180 dias após a instalação do experimento.....  | 172 |
| ANEXO 8 -  | Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> enraizadas, número médio de raízes formadas por estaca e comprimento médio das três maiores raízes, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL <sup>-1</sup> ) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no outono de 2005 e avaliadas aos 365 dias após a instalação do experimento.....    | 172 |
| ANEXO 9 -  | Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> com calos, vivas e mortas, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL <sup>-1</sup> ) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no outono de 2005 e avaliadas aos 365 dias após a instalação do experimento.....   | 173 |
| ANEXO 10 - | Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> enraizadas, número médio de raízes formadas por estaca e comprimento médio das três maiores raízes, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL <sup>-1</sup> ) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no inverno de 2005 e avaliadas aos 365 dias após a instalação do experimento.....   | 173 |
| ANEXO 11 - | Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> com calos, vivas e mortas, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL <sup>-1</sup> ) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no inverno de 2005 e avaliadas aos 365 dias após a instalação do experimento.....  | 174 |
| ANEXO 12 - | Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> enraizadas, número médio de raízes formadas por estaca e comprimento médio das três maiores raízes, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL <sup>-1</sup> ) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas na primavera de 2005 e avaliadas aos 365 dias após a instalação do experimento..... | 174 |

|            |  |     |
|------------|--|-----|
| ANEXO 13 - | Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> com calos, vivas e mortas, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL <sup>-1</sup> ) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas na primavera de 2005 e avaliadas aos 365 dias após a instalação do experimento.....   | 175 |
| ANEXO 14 - | Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> enraizadas, número médio de raízes formadas por estaca e comprimento médio das três maiores raízes, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL <sup>-1</sup> ) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no verão de 2006 e avaliadas aos 365 dias após a instalação do experimento.....    | 175 |
| ANEXO 15 - | Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de <i>M. ilicifolia</i> com calos, vivas e mortas, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL <sup>-1</sup> ) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no verão de 2006 e avaliadas aos 365 dias após a instalação do experimento.....   | 176 |
| ANEXO 16 - | Resultados da análise de variância para a porcentagem de miniestacas de <i>M. ilicifolia</i> enraizadas, número médio de raízes formadas por miniestaca e comprimento médio das três maiores raízes, para diferentes concentrações de IBA (água, 0, 250, 500 e 1000 mgL <sup>-1</sup> ) e meses de coleta (novembro/2006, março, junho e setembro/2007), avaliadas aos 90 dias após a instalação do experimento..... | 176 |
| ANEXO 17 - | Resultados da análise de variância para a porcentagem de miniestacas de <i>M. ilicifolia</i> com calos, vivas e mortas, para diferentes concentrações de IBA (água, 0, 250, 500 e 1000 mgL <sup>-1</sup> ) e meses de coleta (novembro/2006, março, junho e setembro/2007), avaliadas aos 90 dias após a instalação do experimento.....  | 177 |
| ANEXO 18 - | Resultados da análise de variância para a porcentagem de alporques de <i>M. ilicifolia</i> com calos, vivos e mortos, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL <sup>-1</sup> ) e substratos fibra de casca de coco, vermiculita e esfagno, confeccionados no outono de 2005 e avaliados aos 365 dias após a instalação do experimento.....   | 177 |
| ANEXO 19 - | Resultados da análise de variância para a porcentagem de alporques de <i>M. ilicifolia</i> com calos, vivos e mortos, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL <sup>-1</sup> ) e substratos fibra de casca de coco, vermiculita e esfagno, confeccionados no verão de 2006 e avaliados aos 365 dias após a instalação do experimento.....  | 178 |

|  |     |
|--|-----|
| ANEXO 20 - Precipitação mensal, temperaturas médias, média das mínimas e média das máximas no período de janeiro de 2005 a dezembro de 2007, registradas pela estação meteorológica de Curitiba e fornecidas pelo SIMEPAR, 2008..... | 179 |
| ANEXO 21 - Precipitações e temperaturas médias mensais, no período de janeiro de 2005 a dezembro de 2007, registradas pela estação meteorológica de Curitiba e fornecidas pelo SIMEPAR, 2008.....                                    | 180 |
| ANEXO 22 - Precipitação mensal, temperaturas médias, média das mínimas e média das máximas no período de janeiro de 2005 a janeiro de 2007, registradas pela estação meteorológica de Pinhais e fornecidas pelo SIMEPAR, 2008.....   | 181 |
| ANEXO 23 - Precipitações e temperaturas médias mensais, no período de janeiro de 2005 a janeiro de 2007, registradas pela estação meteorológica de Pinhais e fornecidas pelo SIMEPAR, 2008.....                                      | 182 |

## SUMÁRIO

|   |     |
|---|-----|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....   | 24  |
| REFERÊNCIAS.....  | 29  |
| <b>2 CAPÍTULO I – ESTAQUIA E CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA DE ESPINHEIRA-SANTA NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO</b> .....                | 32  |
| RESUMO.....   | 32  |
| ABSTRACT.....   | 33  |
| 2.1 INTRODUÇÃO.....   | 34  |
| 2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....   | 37  |
| 2.2.1 Estaquia.....   | 37  |
| 2.2.2 Análises anatômicas.....  | 40  |
| 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....   | 42  |
| 2.3.1 Estaquia.....   | 42  |
| 2.3.1.1 Porcentagem de estacas enraizadas.....  | 42  |
| 2.3.1.2 Número médio de raízes por estaca.....  | 50  |
| 2.3.1.3 Comprimento médio de raízes por estaca.....   | 53  |
| 2.3.1.4 Porcentagem de estacas vivas.....   | 55  |
| 2.3.1.5 Porcentagem de estacas com calos.....   | 57  |
| 2.3.1.6 Porcentagem de estacas mortas.....  | 60  |
| 2.3.2 Análises anatômicas.....  | 62  |
| 2.4 CONCLUSÕES.....   | 72  |
| REFERÊNCIAS.....  | 73  |
| <b>3 CAPÍTULO II – MINIESTAQUIA DE ESPINHEIRA-SANTA A PARTIR DE PROPÁGULOS JUVENIS</b> .....                                  | 78  |
| RESUMO.....   | 78  |
| ABSTRACT.....   | 79  |
| 3.1 INTRODUÇÃO.....   | 80  |
| 3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....   | 83  |
| 3.2.1 Produtividade de brotações.....   | 85  |
| 3.2.2 Enraizamento de miniestacas.....  | 87  |
| 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....   | 89  |
| 3.3.1 Produtividade de brotações.....   | 89  |
| 3.3.2 Enraizamento de miniestacas.....  | 92  |
| 3.3.2.1 Porcentagem de miniestacas enraizadas.....  | 92  |
| 3.3.2.2 Número médio de raízes por miniestaca.....  | 98  |
| 3.3.2.3 Comprimento médio de raízes por miniestaca.....   | 101 |
| 3.3.2.4 Porcentagem de miniestacas vivas.....   | 102 |
| 3.3.2.5 Porcentagem de miniestacas com calos.....   | 104 |
| 3.3.2.6 Porcentagem de miniestacas mortas.....  | 105 |
| 3.4 CONCLUSÕES.....   | 107 |
| REFERÊNCIAS.....  | 108 |
| <b>4 CAPÍTULO III – ALPORQUIA DE ESPINHEIRA-SANTA COM DIFERENTES SUBSTRATOS E CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDO INDOL BUTÍRICO</b> ..... | 113 |
| RESUMO.....   | 113 |

|  |            |
|--|------------|
| ABSTRACT.....  | 114        |
| 4.1 INTRODUÇÃO.....  | 115        |
| 4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....  | 118        |
| 4.2.1 Alporquia.....   | 118        |
| 4.2.2 Análises anatômicas.....                                     | 122        |
| 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....                                    | 124        |
| 4.3.1 Alporquia.....   | 124        |
| 4.3.1.1 Porcentagem de alporques com calos.....                    | 124        |
| 4.3.1.2 Porcentagem de alporques vivos.....                        | 130        |
| 4.3.1.3 Porcentagem de alporques mortos.....                       | 131        |
| 4.3.2 Análises anatômicas.....                                     | 134        |
| 4.4 CONCLUSÕES.....  | 136        |
| REFERÊNCIAS.....   | 137        |
| <b>5 CAPÍTULO IV – MERGULHIA DE CEPAS DE ESPINHEIRA-SANTA.....</b> | <b>142</b> |
| RESUMO.....  | 142        |
| ABSTRACT.....  | 143        |
| 5.1 INTRODUÇÃO.....  | 144        |
| 5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....  | 146        |
| 5.2.1 Mergulhia de cepa.....                                       | 146        |
| 5.2.2 Sobrevivência das mudas.....                                 | 148        |
| 5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....                                    | 149        |
| 5.3.1 Mergulhia de cepa.....                                       | 149        |
| 5.3.2 Sobrevivência das mudas.....                                 | 153        |
| 5.4 CONCLUSÕES.....  | 155        |
| REFERÊNCIAS.....   | 156        |
| <b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>                                 | <b>159</b> |
| <b>7 CONCLUSÕES GERAIS.....</b>                                    | <b>167</b> |
| <b>ANEXOS.....</b>   | <b>168</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

O tratamento de diversas doenças e a própria história da medicina encontram-se intimamente ligados ao uso de substâncias bioativas existentes nas plantas (ROSA, 1998). Os produtos originários de plantas medicinais ocupam um espaço cada vez maior na terapêutica, pois as contra-indicações e os efeitos colaterais resultantes do uso de medicamentos sintéticos podem ser evitados com a utilização de fitoterápicos e com a mesma eficácia das drogas sintéticas (CORRÊA JÚNIOR; MING; SCHEFFER 1991).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), aproximadamente 80% da população mundial não tem acesso aos medicamentos sintéticos, recorrendo à medicina tradicional para atender suas necessidades de saúde ou ainda, por razões culturais ou religiosas, como no caso da Índia e da China, por exemplo. Nos países em desenvolvimento, o uso tradicional de plantas é secular, tendo importância e influência sócio-cultural nas comunidades, enquanto que nos países desenvolvidos a importância é relacionada à busca de novos medicamentos e princípios ativos pela indústria farmacêutica, para a cura de doenças de maior ocorrência nesses países (SCHEFFER, 2004).

A espinheira-santa, *Maytenus ilicifolia* (Mart. ex Reissek – Celastraceae), é uma espécie subtropical medicinal nativa da América do Sul, sobretudo do Sul do Brasil. Ocorre nas bordas de matas de araucária, sub-bosques, capões e em matas ciliares (SILVA JÚNIOR; OSAIDA, 2006). Tradicionalmente suas folhas têm sido utilizadas para o tratamento de úlceras gástricas e duodenais, dispepsia e outros problemas gástricos. A espécie ainda apresenta propriedades analgésicas, tonificantes, anti-sépticas, cicatrizantes das afecções da pele (acne, eczema, herpes e úlceras), laxativa e diurética (FRANCO, 1996).

Com a comprovação de suas propriedades terapêuticas pela extinta Central de Medicamentos (CEME), do Ministério da Saúde em 1988 e conseqüente recomendação de uso, houve estímulo do consumo *in natura* e aumento da demanda por matéria-prima e por produtos à base de espinheira-santa (CARLINI, 1988). Desse modo, colocou-se em risco a manutenção da espécie como recurso natural, já que a maioria das plantas medicinais utilizadas pela população é nativa e se desenvolve naturalmente nas diferentes formações vegetacionais do país

(CORRÊA JÚNIOR; MING; SCHEFFER, 1991; RADOMSKI, 1998). De acordo com Corrêa Júnior, Ming e Scheffer (1991), o Paraná foi um dos maiores produtores de algumas espécies medicinais, como a camomila, tendo sido considerado também o maior coletor clandestino de toneladas de folhas de espécies nativas, dentre elas, a espinheira-santa.

Segundo levantamento realizado pela Emater-Paraná, a área destinada à produção de espinheira-santa no Estado era inexistente antes de 1994, e em 2004 era de 66 ha, representando 2,6% de toda a área cultivada com plantas medicinais, aromáticas e condimentares. Os plantios concentram-se nas regiões de Curitiba, Irati e Guarapuava. Neste levantamento não foram consideradas áreas onde se realiza o extrativismo (SCHEFFER; CORRÊA JÚNIOR; GRAÇA, 2004).

Na região metropolitana de Curitiba foram detectados 3,7 ha de plantios sistemáticos de espinheira-santa, comportando aproximadamente 37.000 plantas em espaçamentos distintos que proporcionam uma área explorada por planta variando de 0,8 a 2 m<sup>2</sup>. A produtividade média no espaçamento de 2 m<sup>2</sup> foi estimada em 1028 kg ha<sup>-1</sup> por ano. Os valores praticados pelos produtores variavam de R\$ 2,50 a 12,00/kg, enquanto os preços pagos pelos consumidores estavam entre R\$ 20,00 e 290,00/kg (CARVALHO *et al.*, 2003).

A crescente demanda dessa espécie esbarra na dificuldade de obtenção de matéria-prima de qualidade e em quantidade necessárias para utilização pela população (ROSA, 1998), uma vez que a coleta indiscriminada de folhas de espinheira-santa, sem qualquer critério técnico, pode representar um risco para o consumidor do fitoterápico, pela ocorrência de troca entre espécies semelhantes ou a mistura com materiais indesejáveis, além da depredação do patrimônio genético vegetal (RADOMSKI, 1998) e do risco de extinção, pela exploração predatória (FLORES *et al.*, 1998).

O produto oriundo do extrativismo representa uma fração significativa da matéria-prima ofertada, uma vez que o material cultivado não atende a demanda do mercado (SCHEFFER; CORRÊA JÚNIOR; GRAÇA, 2004). Desse modo, é evidenciada a necessidade de estudos sobre fisiologia da planta e o desenvolvimento de técnicas de produção agrícola (ROSA, 1998), para propiciar o aumento na produção de mudas e, conseqüentemente, permitir a ampliação das áreas de cultivo de espinheira-santa.

Os produtores da região metropolitana de Curitiba propagam a espinheira-santa exclusivamente por sementes (CARVALHO *et al.*, 2003). As sementes apresentam percentual médio de germinação de 84,30% em misturas de composto orgânico e terra (0, 25, 50 e 75%), quando retiradas do fruto logo após a coleta e semeadas (KOVALSKI *et al.*, 2008). As sementes mantêm alta capacidade de germinação por 60 dias, tanto em condições ambientais, quanto em câmara seca (15°C e 45,00% de umidade relativa) ou câmara fria (5°C e 85,00% de umidade relativa). Após os 120 dias, a germinação das sementes da câmara fria é superior à daquelas mantida sem condições de ambiente (ROSA; BARROS, 1997; NEGRELLE *et al.*, 1999). Apesar de apresentarem boa germinação, plantas oriundas de sementes possuem grande variabilidade quanto à morfologia e ao teor de metabólitos, não garantindo as características do material propagado (PEREIRA, 1998).

A estaquia é a técnica mais utilizada para a produção de mudas em larga escala, pois diminui o tempo de obtenção das mesmas e possibilita a uniformidade de enraizamento, além de reduzir o período juvenil e, desse modo, promover a antecipação do florescimento (HARTMANN *et al.*, 2002). A espinheira-santa propaga-se vegetativamente, de modo natural, por meio de rebentos nascidos das raízes, e pode ainda ser propagada pelas técnicas de micropropagação, com 100% de enraizamento *ex vitro* (*M. ilicifolia* e *M. aquifolia*) (PEREIRA, 1993), estaquia, com porcentagem de enraizamento de 51,00% (*M. aquifolia*) (SILVA, 1999), alporquia e mergulhia (SILVA JÚNIOR, 2003).

A utilização de reguladores vegetais como o ácido indol butírico (IBA) pode levar à otimização do processo de enraizamento, pelo aumento no número de raízes adventícias formadas, uniformidade e melhor qualidade do sistema radicular. Algumas espécies apresentam dificuldade de regeneração de raízes mesmo sob estímulo do regulador vegetal (HARTMANN *et al.*, 2002).

A juvenilidade do material a ser propagado é um dos fatores que mais interfere no processo de enraizamento, sendo que o material vegetativo proveniente de plantas matrizes adultas possui maior dificuldade de enraizamento (HARTMANN *et al.*, 2002), devido às mudanças anatômicas e bioquímicas relacionadas à maturação dos tecidos, como por exemplo, o surgimento de fibras e esclereídes no córtex caulinar e a elevação dos teores de monofenóis.

O sucesso do enraizamento é dependente das características anatômicas da espécie, e em alguns casos, a ausência de emissão dos primórdios radiciais é devido à presença de fibras e esclereides, formando um anel contínuo na região cortical (WHITE; LOVELL, 1984).

Algumas substâncias atuam em conjunto com as auxinas na formação de raízes, sendo necessárias nesse processo, os chamados co-fatores do enraizamento, dentre os quais estão os compostos fenólicos (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005). Quando os compostos fenólicos endógenos das estacas pertencem ao grupo dos monofenóis, responsáveis pela ativação da síntese do complexo enzimático ácido indol acético oxidase/peroxidase (IAA oxidase/peroxidase), ocorre a destruição do IAA endógeno, reduzindo, conseqüentemente, a indução do enraizamento em estacas (MAYNARD; BASSUK, 1988).

Como alternativa para o uso de material vegetativo com dificuldade de enraizamento podem ser utilizadas técnicas de rejuvenescimento capazes de resgatar as condições favoráveis ao enraizamento (HIGASHI; GONÇALVES; SILVEIRA, 2000), como a poda drástica para a emissão de brotações de touça ou ainda, pode-se realizar a poda de plântulas para estímulo da emissão de brotações que originam miniestacas (FERRIANI, 2006).

A grande maioria dos estudos sobre espinheira-santa no Brasil e no exterior está restrita à área de Farmacologia. Entretanto, as informações sobre a propagação vegetativa e a produção de mudas da espécie são escassas, estando restritas aos trabalhos de micropropagação de *Maytenus aquifolia* (PEREIRA, 1993) e de *M. ilicifolia* (PEREIRA, 1993; FLORES *et al.*, 1998) e de estaquia de *Maytenus aquifolia* (SILVA, 1999). Além disso, em se tratando de uma espécie nativa, medicinal e em risco de extinção, há grande interesse em estudos sobre os métodos de propagação vegetativa para a produção de mudas da espécie. Com o objetivo de estudar a resposta de enraizamento de espinheira-santa em diferentes técnicas de propagação vegetativa e de viabilizar a produção de mudas, foram realizados experimentos de estaquia, miniestaquia, alporquia e mergulhia de cepa, os quais são apresentados em quatro capítulos.

O primeiro capítulo descreve a estaquia semilenhosa e tem por objetivo estudar os efeitos da aplicação de ácido indol butírico (IBA), em solução e em talco, no enraizamento de estacas caulinares de espinheira-santa coletadas nas quatro

estações do ano. Além disso, apresenta análises anatômicas e microquímicas das estacas, para averiguar a presença de possíveis impedimentos à iniciação do enraizamento adventício.

O segundo capítulo aborda a miniestaquia de espinheira-santa, tendo como objetivo avaliar a produtividade de brotações de minicepas originadas por via sexuada e verificar a resposta de enraizamento de miniestacas de espinheira-santa com o uso de diferentes concentrações de IBA, coletadas em diferentes meses do ano.

O terceiro capítulo trata da alporquia com o intuito de avaliar os efeitos da aplicação de IBA e do uso de diferentes substratos no enraizamento de alporques de espinheira-santa, em duas épocas do ano, bem como estudar, por meio de análises anatômicas, o processo de iniciação e formação de primórdios radiciais.

O quarto capítulo relata a mergulhia de cepa, objetivando verificar a resposta de enraizamento de brotações de espinheira-santa por meio desta técnica, bem como avaliar a sobrevivência das mudas obtidas.

## REFERÊNCIAS

- CARLINI, E. A. (Coord.) **Estudo da ação antiúlcera gástrica de plantas brasileiras: *Maytenus ilicifolia*** (espinheira-santa) e outras. Brasília: CEME/AFIP, 1988. 87 p.
- CARVALHO, R. I. N. de; CARDON, L. M.; JAREMTCHUCK, C. C.; KANAWATE, E. N.; SILVA, J. E. C. da. **Carqueja e espinheira-santa na região metropolitana de Curitiba**: da produção ao comércio. 1. ed. Curitiba: Life, 2003. 44 p.
- CORRÊA JÚNIOR, C.; MING, L. C.; SCHEFFER, M. C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. Curitiba: EMATER, 1991. 151 p.
- FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 221 p.
- FERRIANI, A. P. **Estaquia de vassourão-branco (*Piptocarpa angustifolia* Dusén)**. 85 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Produção Vegetal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- FLORES, R.; STEFANELLO, S.; FRANCO, E. T. H.; MANTOVANI, N. Regeneração *in vitro* de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 4, n. 3, p. 201-205, 1998.
- FRANCO, L. L. **As sensacionais 50 plantas medicinais, campeãs de poder curativo**. 1. ed. Curitiba: Santa Mônica, 1996. v. 1, p. 131-132.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002. 880 p.
- HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. de A.; GONÇALVES, A. N. **Propagação vegetativa de *Eucalyptus***: princípios básicos e sua evolução no Brasil. Piracicaba, 2000. p. 1-11. (Circular Técnica IPEF, n. 192)
- KOVALSKI, A. P. de J.; SIGNOR, D.; MACHADO, E. M.; BIASI, L. A.; LIMA, D. M. de. Influência da qualidade da semente e do tipo de substrato na formação de mudas de espinheira-santa. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 9, n.1, p.15-20, 2008.

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: Dioscorides Press, 1988. p. 29-46.

NEGRELLE, R. R. B.; DONI, M. E.; OHLSON, O. C.; HERR, S. Tecnologia de produção de sementes de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. - Celastraceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 21, n. 1, p. 76-81, 1999.

PEREIRA, A. M. S. **Micropropagação de *Maytenus aquifolium* Mart. e *Maytenus ilicifolia* Mart. (espinheira-santa)**. Jaboticabal, 1993. 67 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Melhoramento Genético Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

PEREIRA, A. M. S. Micropropagação de *Maytenus aquifolium* Mart. e *Maytenus ilicifolia* Mart. (espinheira-santa). In: MING., L. C. (Coord.); SCHEFFER, M. C.; CORRÊA JÚNIOR, C.; BARROS, I. B. I.; MATTOS, J. K. A. **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: UNESP, 1998. v. 2, p. 19-32.

RADOMSKI, M. I. **Caracterização ecológica e fitoquímica de *Maytenus ilicifolia* Mart., em populações nativas, no município da Lapa – Paraná**. 98 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1998.

ROSA, S. G. T.; BARROS, I. B. I. Characterization of *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. seeds and viability of their sexual propagation. In: CONGRESO MUNDIAL DE PLANTAS AROMÁTICAS Y MEDICINALES, 2., 1997, Mendoza. **Anais...** Mendoza, 1997. p. 104.

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.* (Coord.) **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: UNESP, 1998. p. 33-51.

SCHEFFER, M. C. Uso tradicional e atual das espécies de *Maytenus*. In: REIS, M. S. dos; SILVA, S. R. (Org.) **Conservação e uso sustentável de plantas medicinais e aromáticas: *Maytenus* spp., espinheira-santa**. Brasília: Ibama, 2004. v. 1, p. 53-66. (Coleção plantas medicinais e aromáticas, espinheira-santa).

SCHEFFER, M. C.; CORRÊA JUNIOR, C.; GRAÇA, L. R. Aspectos da cadeia produtiva da espinheira-santa. In: REIS, M. S. dos; SILVA, S. R. (Org.) **Conservação e uso sustentável de plantas medicinais e aromáticas: *Maytenus***

spp., espinheira-santa. Brasília: Ibama, 2004. v. 1, p. 181-200. (Coleção plantas medicinais e aromáticas, espinheira-santa).

SILVA, C. de P. **Efeitos do NAA, ácido bórico, paclobutrazol e da época de coleta, no enraizamento de estacas caulinares de espinheira-santa (*Maytenus aquifolia* Mart.)**. 99 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas, Botânica) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1999.

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

SILVA JÚNIOR, A. A.; OSAIDA, C. C. Espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*) da flora ao medicamento. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 19, n. 3, p. 36-40, 2006.

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

## 2 CAPÍTULO I - ESTAQUIA E CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA DE ESPINHEIRA-SANTA NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO

### RESUMO

A espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* - Celastraceae) é uma planta medicinal nativa do Sul do Brasil, cujas folhas são tradicionalmente utilizadas na forma de chá pela medicina popular para o tratamento de úlceras e outros problemas gástricos. Apesar de sua importância comercial e medicinal, existem poucos trabalhos publicados sobre a produção de mudas e técnicas de propagação vegetativa da espécie. A propagação de espinheira-santa por estaquia pode 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 (IBA), em solução e em pó, no enraizamento de estacas de espinheira-santa coletadas nas quatro estações do ano (abril/2005 a janeiro/2006). Estacas provenientes de ramos de plantas matrizes de seis anos cultivadas da Estação Experimental do Canguiri, Pinhais, PR, foram coletadas e tratadas com IBA (0, 1500, 3000mgL<sup>-1</sup> ou mgkg<sup>-1</sup>), em solução alcoólica (50% v/v) e em talco. Aos 180 e aos 365 dias foram avaliadas a porcentagem de estacas enraizadas, número e comprimento médio de raízes formadas por estaca, porcentagem de estacas com calos, vivas e mortas. Análises anatômicas e microquímicas com lugol e cloreto férrico foram realizadas. A estação mais promissora para o enraizamento foi o verão/2006 com 29,16% de enraizamento nos tratamentos com IBA a 1500 mgkg<sup>-1</sup> e 3000 mgL<sup>-1</sup> e 62,50% na testemunha, aos 180 e aos 365 dias de instalação, respectivamente, em função da poda realizada nas plantas seis meses antes da coleta dos ramos. Aos 180 dias o número médio de raízes formadas por estaca foi de 3,66 (talco) nesta estação, enquanto que aos 365 dias foi de 6,94 (solução). O comprimento médio de raízes formadas/estaca no verão/2006 chegou a 1,87 cm aos 180 dias e aos 365 dias foi de 4,82 cm. As concentrações de IBA aplicadas não foram eficientes na indução radicial, independentemente do modo de aplicação. Foi detectada a presença de uma camada quase contínua de fibras e braquiesclereídes, a qual constitui barreira anatômica à indução radicial. Os testes microquímicos 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.

Palavras-chave: Auxina. Enraizamento. *Maytenus ilicifolia*. Espécie medicinal. Anatomia vegetal.

## 2 CHAPTER I - CUTTING AND ANATOMICAL CHARACTERIZATION OF *Maytenus ilicifolia* IN FOUR SEASONS OF THE YEAR

### ABSTRACT

*Maytenus ilicifolia* (Celastraceae) is a native medicinal plant from Southern Brazil, whose leaves are traditionally used as a tea in popular medicine, for treatments of stomach ulcers and other gastric problems. Although it has commercial and medicinal importance, there are few works published about seedling production and vegetative propagation techniques for this species. *M. ilicifolia* propagation by cuttings can be an efficient method to obtain homogeneous material, with desirable genetic characteristics, produced from selected mother plants. This work aimed to study the effect of indolebutyric acid application (IBA), in solution and in powder, on cuttings rooting of *M. ilicifolia*, collected in four year seasons (April/2005 to January/2006). Cuttings from semihardwood branches of mother plants were collected at Estação Experimental do Canguiri, Pinhais, PR. After collect, they were treated with IBA (0, 1500, 3000 mgL<sup>-1</sup> or mgkg<sup>-1</sup>) on alcoholic solution (50% v/v) and powder. After 180 and 365 days, the percentage of rooted cuttings, number and mean length of roots/cutting, percentage of cuttings with callus, survival and necrosis were evaluated. Anatomical and micro-chemical analyses were realized with lugol and ferric chloride. The most promising season for rooting was Summer/2006, with 29.16% of rooting in the treatments 1500 mgL<sup>-1</sup> and 3000 mgL<sup>-1</sup> of IBA, and 62.50% in control treatment, at 180 and 365 days after installation, respectively, in function of plant stem trimming 6 months before the branches harvest. At 180 days the mean number of roots/cutting was 3.66 (powder) on Summer, while at 365 days it was 6.94 (solution). The mean length of roots/cutting on Summer/2006 was 1.87 cm at 180 days and 4.82 cm at 365 days. The IBA concentrations applied were not efficient on root growth induction, independent of the application carrier. It was detected a presence of one almost continuous layer of fibers and sclereids, which constitute an anatomical barrier for rooting induction. The micro-chemical tests revealed the presence of starch and phenolic compounds in cuttings, from all year seasons. The difficulty or delay on rooting can not be justified by the absence of starch reserve tissues on cuttings.

Key words: Auxin. Rooting. *Maytenus ilicifolia*. Medicinal species. Plant anatomy.

## 2.1 INTRODUÇÃO

*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, Celastraceae, conhecida como espinheira-santa, é uma planta medicinal cujas folhas são utilizadas pela medicina popular no tratamento de úlceras no estômago e outros problemas gástricos (SANTOS, 1988; LORENZI; MATOS, 2002) e por suas propriedades analgésicas, cicatrizantes das afecções da pele e diurética (KÖRBES, 1995). A espécie distribui-se nos Estados da região sul do Brasil e no Mato Grosso do Sul, e nos países vizinhos Paraguai, Uruguai e leste da Argentina, ocorrendo predominantemente no sub-bosque da Floresta Ombrófila Mista (CARVALHO-OKANO, 1992; RADOMSKI, 1998; CARVALHO-OKANO; LEITÃO-FILHO, 2004).

A propagação de espinheira-santa pode ocorrer sexuada ou assexuadamente, por rebentos nascidos das raízes (SILVA JÚNIOR, 2003), micropropagação (PEREIRA, 1993) e também por meio de estacas caulinares (SILVA, 1999). As sementes de espinheira-santa apresentam boa germinação (85%), contudo, a capacidade de germinação é reduzida após os 60 dias de armazenamento em condições ambientais (NEGRELLE *et al.*, 1999), sendo 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). Sendo assim, 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 (SILVA, 1999).

Todavia, por meio de resultados da estaquia com propágulos herbáceos de espinheira-santa (*Maytenus aquifolia*), verificou-se que esta é uma espécie de difícil enraizamento, uma vez que as primeiras raízes foram observadas após dois meses de instalação dos experimentos, sendo que aos seis meses muitas estacas permaneceram vivas mas sem a presença de raízes (SILVA, 1999). Em plantas difíceis de enraizar, a dificuldade na formação de raízes pode ocorrer devido a

atividade de um ou mais cofatores endógenos em quantidade insuficiente, embora a concentração de auxina seja suficiente para a iniciação radicular (HARTMANN *et al.*, 2002).

A formação de raízes adventícias é dependente de vários fatores, destacando-se as condições fisiológicas (presença de carboidratos, substâncias nitrogenadas, aminoácidos, auxinas, compostos fenólicos e substâncias não identificadas). Tais substâncias, quando em proporções e concentrações adequadas, se acumulam na zona de regeneração 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; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005).

A utilização de reguladores vegetais no enraizamento é uma prática largamente difundida, sendo uma técnica que, em muitas espécies de difícil enraizamento, pode tornar viável a produção de mudas por estaquia. O tratamento das estacas com auxinas como o ácido indol butírico (IBA) estimula a iniciação radicular, 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). As auxinas podem ser aplicadas na base das estacas na forma de solução ou pó. A aplicação na forma líquida é mais uniforme (DOLE; WILKINS, 1999), enquanto que a forma em pó é muito utilizada por ser de fácil manuseio (FORTES, 1998).

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; HOFFMANN; NACHTIGAL, 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 pode permitir explicar o insucesso do enraizamento, que em alguns casos 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).

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

## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1 Estaquia

As coletas de espinheira-santa foram realizadas na terceira semana de cada estação do ano, sempre no período da manhã. Desse modo, as datas de coleta e o respectivo estágio fenológico das plantas matrizes foram os seguintes: outono (15 de abril/2005, plantas em período de repouso), inverno (15 de julho/2005, plantas no início da floração), primavera (15 de outubro/2005, plantas com flores e frutos) e verão (15 de janeiro/2006, plantas no final da frutificação). Os ramos semilenhosos foram obtidos de plantas matrizes oriundas de sementes da área cultivada instalada em 1999, na Estação Experimental do Canguiri, UFPR (Figuras 1A e 1B). 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.

O solo é caracterizado como Cambissolo Háplico Tb Distrófico latossólico, com horizonte A proeminente e textura argilosa (EMBRAPA, 1999). O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é classificado como Cfb, mesotérmico úmido sem estação seca definida, com temperatura mínima média de 12,5°C e temperatura máxima média de 22,5°C, estando sujeito a geadas severas (mais de cinco por ano). A precipitação média anual da região é de 1400 a 1500 mm, sendo os meses de abril e maio os mais secos com média de 75 a 100 mm (IAPAR, 1994). A precipitação mensal e as temperaturas médias, média das mínimas e média das máximas registradas para o município de Pinhais, no período de coleta das estacas, são apresentadas nos Anexos 22 e 23.

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



FIGURA 1 – Estaquia de espinheira-santa. A. Plantio de 6 anos de idade, localizado na Estação Experimental do Canguiri, Pinhais-PR. B. Planta matriz. C. Coleta de ramos. D. Confeção das estacas. E. Estacas plantadas em tubetes e mantidas em câmara de nebulização. UFPR, Curitiba – PR, 2006.

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. Foram confeccionadas estacas caulinares com diâmetro variando entre 0,2 e 0,7 cm e com comprimento entre 10 e 12 cm, com corte em bisel na base e transversal acima da última gema axilar, mantendo-se um par de folhas na porção apical (Figuras 1C e 1D). Após a confecção, foram submetidas a tratamento fitossanitário com 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 IBA nas concentrações de 0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>, por 10 segundos, e em mistura de IBA com talco, nas concentrações 0, 1500 e 3000 mgkg<sup>-1</sup> IBA. O plantio foi realizado em tubetes de 53 cm<sup>3</sup> contendo vermiculita de granulometria fina como substrato (Figura 1E).

O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado, com 6 tratamentos e 4 repetições de 24 estacas por parcela, com arranjo fatorial de 3 x 2 (três concentrações de IBA e dois modos de aplicação, solução e talco), em cada época, separadamente.

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, com o seguinte tempo de rega: 15 segundos a intervalos de 15 minutos, das 8h às 17h; 15 segundos de rega a cada hora, das 17h às 23h e 15 segundos de rega a cada 3 horas, das 23h às 8h. As temperaturas médias, média das mínimas e média das máximas registradas para Curitiba, no período de realização dos experimentos de estaquia, são apresentadas nos Anexos 20 e 21.

Aos 180 e aos 365 dias após o plantio, foram avaliadas as variáveis: porcentagem de estacas enraizadas (estacas que apresentaram pelo menos uma raiz, podendo ou não apresentar calos); porcentagem de estacas vivas (estacas que não formaram calos nem raízes); porcentagem de estacas com calos (apresentaram a formação de calos, mas sem o enraizamento); e porcentagem de estacas mortas (estacas que apresentaram necrose em toda ou na maior parte de sua extensão), número médio de raízes por estaca e comprimento das três maiores raízes formadas

por estaca (cm). A medição do comprimento das raízes foi feita com a utilização de régua milimetrada.

Na avaliação realizada aos 180 dias, as estacas enraizadas e mortas foram analisadas e retiradas do substrato, permanecendo no leito de enraizamento apenas as estacas vivas e com calos. Aos 365 dias as estacas restantes foram avaliadas e as porcentagens obtidas (enraizamento, sobrevivência e mortalidade) somadas àquelas verificadas aos 180 dias.

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. Para a realização da análise estatística foi utilizado o programa MSTAT-C<sup>®</sup>, versão 2.10 (Russel D. Freed, MSTAT Director, Crop and Soil Science Department, Michigan State University, E.U.A).

### 2.2.2 Análises anatômicas

Para a análise anatômica 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. Na estação inverno (julho/2005), foram coletadas as bases de estacas enraizadas no momento da avaliação (julho/2006), sendo estas retiradas do leito de enraizamento 365 dias após a instalação do experimento.

As amostras foram fixadas em F.A.A. 70 (etanol 70%, ácido acético e formaldeído, 90:5:5) (JOHANSEN, 1940) por cerca de 72 horas e posteriormente conservadas em etanol 70%. Os materiais destinados à preparação de lâminas permanentes foram incluídos em meta-acrilato-glicol (historresina-Leica<sup>®</sup>), segundo a técnica de Feder e 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; FEDER; McCULLY, 1965). As lâminas foram montadas com resina sintética (Permalte<sup>®</sup>).

Para as bases das estacas coletadas nas instalações dos experimentos, em todas as estações do ano, foram realizados testes microquímicos 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<sup>®</sup> acoplada.

## 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.3.1 Estaquia

A discussão dos dados relacionados à estaquia foi organizada por variável e, dentro de cada variável, pelas estações do ano, nas quais foram instalados os experimentos.

O Teste de Bartlett revelou que as variáveis analisadas aos 180 e aos 365 dias apresentaram as variâncias homogêneas. A homogeneidade não foi observada para a variável comprimento médio de raízes na primeira avaliação (180 dias), para estacas coletadas no inverno/2005, e para as variáveis porcentagem de estacas vivas e de estacas com calos na segunda avaliação (365 dias) para coleta realizada na primavera/2005. A transformação dos dados foi realizada, mas a homogeneidade não foi verificada do mesmo modo.

#### 2.3.1.1 Porcentagem de estacas enraizadas

Para a avaliação realizada aos 180 dias, a análise de variância revelou interação entre os fatores modo de aplicação e concentração para porcentagem de enraizamento de estacas coletadas no inverno e primavera/2005 e verão/2006, demonstrando que os mesmos não são independentes (Anexos 2, 4 e 6).

As porcentagens de enraizamento obtidas nas quatro estações do ano encontram-se na Tabela 1. No outono/2005 não foi verificado enraizamento após 180 dias de permanência das estacas em casa-de-vegetação. No inverno/2005 verificou-se baixos percentuais de enraizamento (1,04 a 3,12%), sendo o talco o melhor modo de aplicação de IBA. Estes resultados divergem dos obtidos em trabalho realizado com estacas herbáceas de outra espinheira-santa (*Maytenus aquifolia*), avaliadas aos 180 dias após a instalação, no qual Silva (1999) verificou maior enraizamento (19,79%) para a testemunha (água) no outono. Entretanto, no inverno, a mesma autora verificou a maior porcentagem de enraizamento (51,04%),

obtida com aplicação de ácido naftaleno acético, paclobutrazol e boro, sendo esta a época mais adequada para o enraizamento desta espécie.

TABELA 1 - Porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* enraizadas, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e nas quatro estações do ano, avaliadas aos 180 dias. UFPR, Curitiba – PR, 2005 e 2006.

| Estação do ano    | Modo de aplicação | ESTACAS ENRAIZADAS (%) |           |           | Médias |
|-------------------|-------------------|------------------------|-----------|-----------|--------|
|                   |                   | Concentração           |           |           |        |
|                   |                   | 0                      | 1500      | 3000      |        |
| Outono<br>2005    | Solução           | 0,00                   | 0,00      | 0,00      | 0,00   |
|                   | Talco             | 0,00                   | 0,00      | 0,00      | 0,00   |
|                   | Médias            | 0,00                   | 0,00      | 0,00      |        |
| Inverno<br>2005   | Solução           | 2,08 A a               | 1,04 B ab | 0,00 B b  | 1,04   |
|                   | Talco             | 2,08 A a               | 2,08 A a  | 3,12 A a  | 2,43   |
|                   | Médias            | 2,08                   | 1,56      | 1,56      |        |
| Primavera<br>2005 | Solução           | 2,08 B b               | 2,08 A b  | 3,12 A a  | 2,43   |
|                   | Talco             | 5,21 A a               | 2,08 A c  | 3,12 A b  | 3,47   |
|                   | Médias            | 3,64                   | 2,08      | 3,12      |        |
| Verão<br>2006     | Solução           | 13,55 B c              | 20,83 B b | 29,17 A a | 21,18  |
|                   | Talco             | 20,83 A b              | 29,16 A a | 12,50 B c | 20,83  |
|                   | Médias            | 17,19                  | 25,00     | 20,83     |        |

Concentração IBA ( $\text{mgL}^{-1}$  ou  $\text{mgkg}^{-1}$ ); Inverno ( $\text{CV}\% = 37,87$ ,  $\chi^2 = 7,912^{\text{ns}}$ ); Primavera ( $\text{CV}\% = 5,11$ ,  $\chi^2 = 1,908^{\text{ns}}$ ); Verão ( $\text{CV}\% = 5,27$ ,  $\chi^2 = 3,995^{\text{ns}}$ ). Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna, para modo de aplicação, e da mesma letra minúscula na linha, para concentrações, não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Neste experimento, na primavera/2005, observou-se enraizamento semelhante ao obtido no inverno/2005. Quando o IBA foi aplicado em solução, a concentração  $3000 \text{ mgL}^{-1}$  foi superior (3,12%) às demais, enquanto que, em talco, a testemunha foi superior (5,21%), sendo esta a maior porcentagem de enraizamento obtida na estação. Entretanto, Silva (1999), obteve porcentagem de enraizamento de 23,95% para a testemunha, com estacas herbáceas de espinheira-santa nesta mesma estação.

No verão/2006 foram obtidas as maiores porcentagens de enraizamento de espinheira-santa. Quando o IBA foi aplicado em solução, a concentração  $3000 \text{ mgL}^{-1}$  foi superior (29,17%) às demais, enquanto que, em talco, a concentração  $1500 \text{ mgkg}^{-1}$  (29,16%) diferiu significativamente da concentração  $3000 \text{ mgkg}^{-1}$  (12,50%) e da testemunha (20,83%). Todavia, em estacas herbáceas de outra espécie de espinheira-santa (*M. aquifolia*), coletadas no verão e avaliadas aos 180 dias, Silva (1999) obteve menor enraizamento (21,87%). Entretanto, é importante salientar que o trabalho de Silva (1999) foi realizado com propágulos herbáceos obtidos de plantas matrizes de 11 anos, cultivadas em Ribeirão Preto-SP, oriundas de sementes e mantidas sob condições de poda, nutrição e irrigação adequadas. No

período de realização do experimento (1997 e 1998) em Ribeirão Preto as temperaturas médias mínimas variaram de 12,7 a 21°C e as temperaturas médias máximas de 24,5° a 32°C.

Os resultados verificados para o enraizamento das estacas de espinheira-santa coletadas no verão/2006 possivelmente são decorrentes da poda realizada seis meses antes da coleta do material, uma vez que 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 (FERRIANI, 2006). 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, garantindo desse modo a manifestação do potencial genético do material selecionado.

As diferenças na porcentagem de enraizamento entre *M. ilicifolia* e *M. aquifolia* nas épocas do ano estão relacionadas à variabilidade genética existente entre as duas espécies e entre os representantes da mesma espécie, ao potencial genético das plantas matrizes utilizadas e aos demais fatores que influenciam no enraizamento adventício. Dentre esses fatores pode-se citar a juvenilidade das brotações, presença de indutores e inibidores do enraizamento, período de coleta, período de dormência, estado nutricional das plantas matrizes, sanidade e variações nas condições climáticas.

Na avaliação feita aos 365 dias, 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 (Anexos 8, 12 e 14). Entretanto, para o inverno/2005 não houve interação entre os fatores, demonstrando que os mesmos são independentes (Anexo 10).

Nesta segunda avaliação dos experimentos verificou-se aumento nas porcentagens de enraizamento (Figuras 2A e 2B) nas quatro estações do ano (Tabela 2). No outono/2005, verificou-se para o enraizamento diferença significativa entre a testemunha (33,33%) e o tratamento 1500 mgL<sup>-1</sup> IBA (28,13%), para o IBA aplicado em solução. Para a aplicação de IBA em talco, valores significativamente superiores foram obtidos para a testemunha (35,67%) e o tratamento 3000 mgkg<sup>-1</sup> IBA (35,42%), em relação ao tratamento 1500 mgkg<sup>-1</sup> (25,00%).

TABELA 2 - Porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* 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 | Modo de aplicação | ESTACAS ENRAIZADAS (%) |            |            | Médias  |
|----------------|-------------------|------------------------|------------|------------|---------|
|                |                   | 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 IBA ( $\text{mgL}^{-1}$  ou  $\text{mgkg}^{-1}$ ); Outono ( $\text{CV}\% = 6,81$ ,  $\chi^2 = 5,145^{\text{ns}}$ ); Inverno ( $\text{CV}\% = 16,87$ ,  $\chi^2 = 3,237^{\text{ns}}$ ); Primavera ( $\text{CV}\% = 27,34$ ,  $\chi^2 = 1,502^{\text{ns}}$ ); Verão ( $\text{CV}\% = 7,04$ ,  $\chi^2 = 2,140^{\text{ns}}$ ). 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 verão/2006 foram obtidas as maiores porcentagens de enraizamento em estacas de espinheira-santa (Tabela 2 e Figuras 2A e 2B). Quando o IBA foi aplicado em solução, não foi detectada diferença significativa entre os tratamentos testados, enquanto que, para a aplicação em talco, a testemunha (62,50%) destacou-se, diferindo significativamente do tratamento  $3000 \text{ mgkg}^{-1}$  (53,13%). Dentre as quatro estações estudadas, o verão/2006 destacou-se como a estação em que foi obtida a maior porcentagem média de enraizamento (58,34%) em talco, sendo a melhor estação do ano para o enraizamento da espécie. Entretanto, Silva (1999) considerou o inverno como a estação mais adequada para o enraizamento de estacas herbáceas de espinheira-santa, na qual a porcentagem de enraizamento foi de 51,04%.

No inverno/2005, baixas taxas de enraizamento foram observadas, as quais variaram de 10,42 a 26,04%, com médias gerais de 18,40% para IBA em solução e 18,75% para IBA em talco, não sendo constatada diferença significativa entre as mesmas. Para as concentrações de IBA testadas, verificou-se porcentagens médias

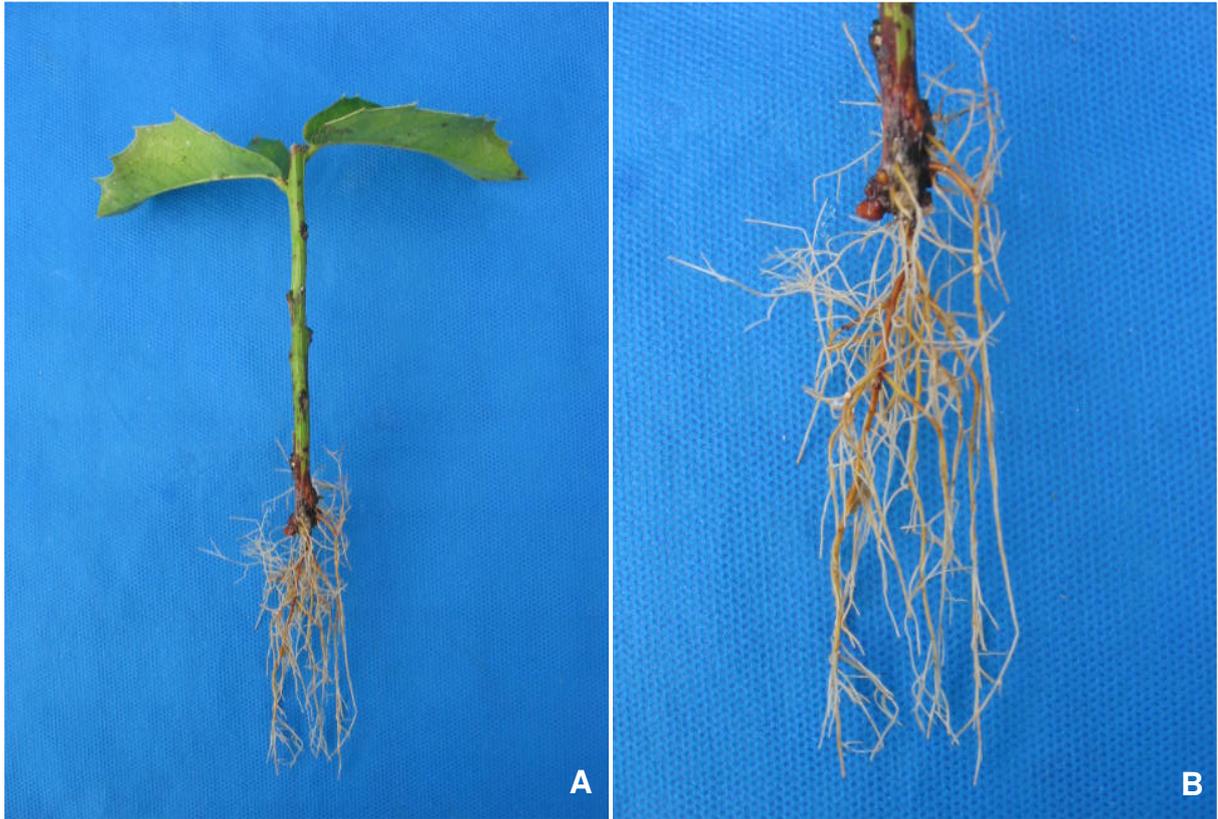


FIGURA 2 – Estacas de espinheira-santa enraizadas. A. Avaliação de estacas coletadas no verão/2006 aos 365 dias após a estaquia (testemunha talco). B. Detalhe do sistema radicial formado. UFPR, Curitiba – PR, 2007.

de enraizamento superiores para os tratamentos 3000 (23,96%) e 1500 mg (19,79%) quando comparadas a testemunha nesta época (11,98%).

Na primavera/2005 observou-se enraizamento extremamente baixo aos 365 dias, tanto quanto aqueles verificados aos 180 dias, sendo os menores dentre as quatro estações do ano. Quando o IBA foi aplicado em solução, a concentração 1500 mgL<sup>-1</sup> foi significativamente superior (10,42%) à 3000 mgL<sup>-1</sup> (5,21%), enquanto que, em talco, verificou-se diferença significativa entre a testemunha (10,42%) e o tratamento 3000 mgL<sup>-1</sup> (5,21%).

A aplicação de IBA em estacas de espinheira-santa coletadas no verão/2006 proporcionou aumento na porcentagem de enraizamento aos 180 dias para o tratamento 3000 mgL<sup>-1</sup> (29,17%), sendo esta taxa duplicada em relação à testemunha (13,55%). Aos 365 dias, a promoção do enraizamento foi observada somente para estacas coletadas no inverno/2005, com a aplicação de 3000 mg IBA (23,96%), sendo este percentual duas vezes maior que o verificado para a testemunha (11,98%). De modo geral, os resultados demonstraram pouca ou nenhuma influência da auxina no enraizamento de estacas de espinheira-santa. Embora estes reguladores vegetais possam aumentar a porcentagem, velocidade, qualidade e uniformidade do enraizamento (HARTMANN *et al.*, 2002), em análise geral dos dados, estes efeitos não foram confirmados neste trabalho.

A ausência de resposta significativa ao desenvolvimento radicial das 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 no momento da coleta das estacas é anulado.

Para a aplicação de auxina na base das estacas de espinheira-santa foram testados dois modos de aplicação, líquido e sólido (solução e talco) e pelo panorama geral dos resultados de enraizamento, aos 180 dias e aos 365 dias, nenhum dos dois veículos foi eficiente para a espécie. De acordo com Cuquel e 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. Entretanto, o talco contendo

auxina, mesmo tendo proporcionado contato do regulador vegetal com a estaca por mais tempo, não apresentou efeito favorável ao enraizamento.

Pela porcentagem média de enraizamento (58,34%) obtida no verão/2006, aos 365 dias após a instalação do experimento, *M. ilicifolia* é considerada uma espécie de difícil enraizamento, resultados estes que concordam com relatos anteriores de Silva (1999), para *M. aquifolia*. O potencial 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, Hoffmann e Nachtigal (2005).

A porcentagem de enraizamento na primeira avaliação da estaquia variou de 0,00 a 29,17%, o que permite reforçar o indício de que a auxina exógena não atuou na indução radicial. 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 mgL<sup>-1</sup> IBA, os percentuais chegaram a aproximadamente 60,00% de enraizamento (TOFFANELLI *et al.*, 2002). No entanto, ao contrário das estacas de pessegueiro, as estacas de espinheira-santa não responderam à aplicação de IBA nas concentrações 1500 e 3000 mg e, nas diferentes estações do ano, a testemunha não diferiu dos tratamentos auxínicos na porcentagem de enraizamento, com exceção dos tratamentos 1500 mgkg<sup>-1</sup> e 3000 mgL<sup>-1</sup> de IBA, superiores aos demais no verão/2006.

O enraizamento observado aos 180 dias foi baixo, independentemente da concentração de IBA aplicada e do veículo utilizado, sugerindo que para esta espécie somente a aplicação de auxina em material adulto não é suficiente para a promoção do enraizamento. Estes resultados discordam das afirmações de Cuquel e Minami (1994), de que em espécies de difícil enraizamento a auxina endógena e/ou os cofatores do enraizamento estão abaixo do limite mínimo necessário para induzir a diferenciação e, mesmo sob condições ambientais favoráveis, o nível de auxina endógena é insuficiente, necessitando ser complementado.

Com a presença ou ausência da aplicação de auxina, o processo de indução e formação de raízes em estacas caulinares de espinheira-santa necessitou de um

longo período de tempo para ocorrer, de 180 a 365 dias. Em geral, as espécies apresentam períodos de tempo variáveis para a indução do enraizamento, como é o caso de estacas de *Macadamia integrifolia*, cujo tempo necessário para o estabelecimento do sistema radicial foi de 120 dias após a instalação do experimento (RIBAS, 1993). Estacas caulinares de plantas do gênero *Rhododendron*, cultivares Cynthia, Pink Pearl e Britannica, permaneceram no leito de enraizamento por 100 dias (ADAMS; ROBERTS, 1967), enquanto que para estacas de *Rhododendron maximum*, o tempo de permanência foi de 135 dias (WILLIAMS; BILDERBACK, 1980).

Por meio dos resultados obtidos nas diferentes épocas do ano, constatou-se que para a produção comercial de mudas, as porcentagens obtidas ainda são consideradas baixas mesmo com a aplicação de IBA, principalmente aquelas verificadas nas estações do outono, inverno e primavera/2005. As taxas de enraizamento obtidas no verão/2006 foram as mais promissoras para a produção de mudas da 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; KERSTEN; FACHINELLO, 2002; FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005). De acordo com Kersten, Tavares e Nachtigal (1994) e Fachinello, Hoffmann e Nachtigal (2005) o alto grau de lignificação das estacas pode ser prejudicial à emissão das raízes, dificultando ainda mais o processo de enraizamento. A influência da época de coleta das estacas pode ser também atribuída às condições climáticas, especialmente com relação à temperatura e à disponibilidade de água (DUTRA; KERSTEN; FACHINELLO, 2002).

Na primavera/2005, as plantas de espinheira-santa encontravam-se em plena floração e no início da frutificação. 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 de espinheira-santa 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; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005).

No verão/2006, as plantas matrizes estavam no final do período de frutificação. Além disso, os ramos coletados estavam menos lignificados, devido à poda realizada em julho de 2005 e ao período de intenso crescimento vegetativo, características estas que favoreceram o enraizamento. Segundo Fachinello, Hoffmann e Nachtigal (2005) estacas coletadas nessa época apresentam baixo grau de lignificação e elevada atividade do câmbio, apresentando uma consistência mais herbácea, resultante da fase mais ativa de crescimento dos ramos. Os tecidos que se encontram em uma 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 conseqüente formação dos primórdios.

As estacas de espinheira-santa 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, Hoffmann e Nachtigal (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.

#### 2.3.1.2 Número médio de raízes por estaca

Por meio dos resultados da análise de variância, verificou-se que houve interação entre os fatores modo de aplicação e concentração para número médio de raízes para estacas coletadas na primavera/2005 e verão/2006, demonstrando que os mesmos não são independentes (Anexos 4 e 6). Todavia, o mesmo não foi observado para o inverno/2005, havendo independência dos fatores (Anexo 2).

No outono/2005 não houve formação de raízes aos 180 dias. No inverno/2005 foram observadas poucas raízes formadas, com média geral de 0,25 para IBA em solução, e de 1,25 para IBA em talco, não havendo diferença significativa entre os modos de aplicação e as concentrações de IBA testadas (Tabela 3). Os maiores valores para o número médio de raízes por estaca foram obtidos na primavera/2005 e no verão/2006. Na primavera/2005, observou-se a superioridade da concentração 3000 mgL<sup>-1</sup> em solução (1,87) e da concentração 1500 mgkg<sup>-1</sup> em talco (3,75), ambas diferindo das demais, sendo a maior média geral verificada para o IBA aplicado em talco (2,58). No verão obteve-se os melhores resultados com a concentração 1500, tanto em solução (4,06) quanto em talco (4,01), não havendo, porém, diferença significativa quando comparada a concentração 3000 mgkg<sup>-1</sup> em talco.

TABELA 3 - Número médio de raízes formadas por estaca de *M. ilicifolia*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e nas quatro estações do ano, avaliadas aos 180 dias. UFPR, Curitiba – PR, 2005 e 2006.

| Estação do ano    | Modo de aplicação | NÚMERO MÉDIO DE RAÍZES |          |          | Médias |
|-------------------|-------------------|------------------------|----------|----------|--------|
|                   |                   | Concentração           |          |          |        |
|                   |                   | 0                      | 1500     | 3000     |        |
| Outono<br>2005    | Solução           | 0,00                   | 0,00     | 0,00     | 0,00   |
|                   | Talco             | 0,00                   | 0,00     | 0,00     | 0,00   |
|                   | Médias            | 0,00                   | 0,00     | 0,00     |        |
| Inverno<br>2005   | Solução           | 0,25                   | 0,50     | 0,00     | 0,25 A |
|                   | Talco             | 1,50                   | 0,75     | 1,50     | 1,25 A |
|                   | Médias            | 0,87 a                 | 0,62 a   | 0,75 a   |        |
| Primavera<br>2005 | Solução           | 1,00 B b               | 0,75 B b | 1,87 A a | 1,21   |
|                   | Talco             | 3,37 A b               | 3,75 A a | 0,62 B c | 2,58   |
|                   | Médias            | 2,19                   | 2,25     | 1,25     |        |
| Verão<br>2006     | Solução           | 2,93 A c               | 4,06 A a | 3,39 B b | 3,46   |
|                   | Talco             | 3,19 A b               | 4,01 A a | 3,78 A a | 3,66   |
|                   | Médias            | 3,07                   | 4,04     | 3,59     |        |

Concentração IBA (mgL<sup>-1</sup> ou mgkg<sup>-1</sup>); Inverno (CV% = 93,23,  $\chi^2 = 8,694^{ns}$ ); Primavera (CV% = 10,08,  $\chi^2 = 7,276^{ns}$ ); Verão (CV% = 4,37,  $\chi^2 = 3,509^{ns}$ ). 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.

Para a segunda avaliação, a análise de variância revelou interação entre os fatores modo de aplicação e concentração para número médio de raízes em estacas coletadas no inverno e primavera/2005, demonstrando que os mesmos não são independentes (Anexos 10 e 12). Já para as estações outono/2005 e verão/2006, não houve interação entre os fatores, confirmando a independência entre ambos (Anexos 8 e 14).

Comparando-se aos resultados da avaliação aos 180 dias, observou-se aos 365 dias maior número médio de raízes formadas por estaca, nas quatro estações do ano (Tabela 4). No outono/2005 o número médio de raízes formadas por estaca foi de 4,80 para aplicação de IBA em solução e de 4,95 para IBA em talco. Não foi verificada diferença significativa entre os modos de aplicação e as concentrações de IBA testadas.

TABELA 4 - Número médio de raízes formadas por estaca de *M. ilicifolia*, 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<br>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<br>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<br>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<br>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 IBA ( $\text{mgL}^{-1}$  ou  $\text{mgkg}^{-1}$ ); Outono ( $\text{CV}\% = 33,78$ ,  $\chi^2 = 5,416^{\text{ns}}$ ); Inverno ( $\text{CV}\% = 18,53$ ,  $\chi^2 = 2,373^{\text{ns}}$ ); Primavera ( $\text{CV}\% = 22,04$ ,  $\chi^2 = 2,693^{\text{ns}}$ ); Verão ( $\text{CV}\% = 12,18$ ,  $\chi^2 = 1,350^{\text{ns}}$ ). 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 inverno/2005 constatou-se maior número médio de raízes formadas por estaca para a testemunha em talco (6,96), significativamente superior testemunha em solução (3,46) (Tabela 4). Para o talco verificou-se diferença significativa entre as concentrações testadas, destacando-se a testemunha (6,96), enquanto que para a solução, não tenha sido verificada diferença significativa entre as concentrações.

A diferença verificada para os tratamentos com IBA em solução em algumas das estações do ano pode ser devida ao efeito do álcool na formação e crescimento de raízes em espinheira-santa. Entretanto, estes resultados não concordam com os de Koch *et al.* (2001), os quais não verificaram toxicidade de soluções etanólicas nas concentrações de 10, 30, 50 e 70%, para a formação de raízes em estacas semilenhosas de maracujá amarelo nativo (*Passiflora actinia*).

Os menores valores para o número médio de raízes aos 365 dias após a instalação foram obtidos na primavera/2005 (Tabela 4). Não houve diferença

significativa entre as concentrações testadas para o IBA aplicado em solução. No entanto, para o IBA em talco verificou-se diferença estatística para a testemunha (2,86) e o tratamento 1500 mgkg<sup>-1</sup> IBA (3,19) quando comparados ao tratamento 3000 mgkg<sup>-1</sup> IBA (1,00).

As estacas coletadas no verão/2006 apresentaram o maior número médio de raízes formadas por estaca também aos 365 dias (Figuras 2A e 2B). A média geral obtida para número de raízes foi de 6,94 para o IBA aplicado em solução, e de 6,83 para o IBA em talco, entretanto, não foi verificada diferença significativa entre os modos de aplicação e as concentrações de IBA 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 herbáceas, e, por isso, demonstram maior capacidade de enraizamento (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005).

### 2.3.1.3 Comprimento médio de raízes

Aos 180 dias, os resultados da análise de variância revelaram interação entre os fatores modo de aplicação e concentração, para comprimento médio de raízes em estacas coletadas na primavera/2005 e no verão/2006, demonstrando que os mesmos não são independentes (Anexos 4 e 6).

Os melhores resultados para comprimento médio das raízes aos 180 dias foram constatados na primavera/2005 e no verão/2006 (Tabela 5). Na primavera/2005 verificou-se a superioridade (2,43 cm) da concentração 3000 mgL<sup>-1</sup> IBA, e da testemunha, em talco (3,34 cm). No verão/2006 verificou-se que o comprimento das raízes na testemunha (2,13 cm) foi significativamente superior à concentração 1500 mgL<sup>-1</sup> (1,52 cm) para aplicação de IBA em solução. Para a aplicação de IBA em talco não houve diferença significativa entre os tratamentos.

TABELA 5 - Comprimento médio de raízes formadas por estaca de *M. ilicifolia*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e nas quatro estações do ano, avaliadas aos 180 dias. UFPR, Curitiba – PR, 2005 e 2006.

| Estação do ano    | Modo de aplicação | COMPRIMENTO MÉDIO DE RAÍZES (cm) |          |           | Médias |
|-------------------|-------------------|----------------------------------|----------|-----------|--------|
|                   |                   | Concentração                     |          |           |        |
|                   |                   | 0                                | 1500     | 3000      |        |
| Outono<br>2005    | Solução           | 0,00                             | 0,00     | 0,00      | 0,00   |
|                   | Talco             | 0,00                             | 0,00     | 0,00      | 0,00   |
|                   | Médias            | 0,00                             | 0,00     | 0,00      |        |
| Inverno<br>2005   | Solução           | 0,13                             | 0,13     | 0,00      | 0,08   |
|                   | Talco             | 0,42                             | 0,98     | 1,01      | 0,80   |
|                   | Médias            | 0,27                             | 0,55     | 0,51      |        |
| Primavera<br>2005 | Solução           | 1,11 B b                         | 0,60 A c | 2,43 A a  | 1,38   |
|                   | Talco             | 3,34 A a                         | 0,68 A c | 1,21 B b  | 1,75   |
|                   | Médias            | 2,23                             | 0,64     | 1,82      |        |
| Verão<br>2006     | Solução           | 2,13 A a                         | 1,52 A b | 1,95 A ab | 1,87   |
|                   | Talco             | 1,36 B a                         | 1,76 A a | 1,27 B a  | 1,46   |
|                   | Médias            | 1,75                             | 1,64     | 1,61      |        |

Concentração IBA ( $\text{mgL}^{-1}$  ou  $\text{mgkg}^{-1}$ ); Outono; Inverno ( $\text{CV}\% = 141,76$ ,  $\chi^2 = 12,052^*$ ); Primavera ( $\text{CV}\% = 10,60$ ,  $\chi^2 = 7,160^{\text{ns}}$ ); Verão ( $\text{CV}\% = 19,42$ ,  $\chi^2 = 8,121^{\text{ns}}$ ). 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.

Para as estacas coletadas nas quatro estações do ano e avaliadas aos 365 dias a análise de variância demonstrou interação entre os fatores modo de aplicação e concentração, constatando-se que os mesmos não são independentes (Anexos 8, 10, 12 e 14). A avaliação realizada aos 365 dias revelou um aumento no comprimento médio das raízes nas estações testadas (Tabela 6).

No outono/2005, inverno/2005 e verão/2006 o comprimento das raízes atingiu valores médios muito próximos, variando de 3,69 cm no outono/2005 a 4,82 cm no verão/2006 (Tabela 6 e Figuras 2A e 2B). Nas três estações não foi verificada diferença significativa entre os modos de aplicação e as concentrações de IBA 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 das brotações, no período do ano com temperaturas mais elevadas (Anexos 22 e 23).

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

Para a produção comercial de mudas de espinheira-santa a porcentagem de enraizamento das estacas é de extrema importância. Entretanto, 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. De acordo com Reis *et al.* (2000) 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.

TABELA 6 - Comprimento médio de raízes formadas por estaca de *M. ilicifolia*, 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 | COMPRIMENTO MÉDIO DAS RAÍZES (cm) |        |        | Médias |
|-------------------|-------------------|-----------------------------------|--------|--------|--------|
|                   |                   | Concentração                      |        |        |        |
|                   |                   | 0                                 | 1500   | 3000   |        |
| Outono<br>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<br>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<br>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<br>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 IBA ( $\text{mgL}^{-1}$  ou  $\text{mgkg}^{-1}$ ); Outono ( $\text{CV}\% = 19,91$ ,  $\chi^2 = 6,982^{\text{ns}}$ ); Inverno ( $\text{CV}\% = 32,04$ ,  $\chi^2 = 5,488^{\text{ns}}$ ); Primavera ( $\text{CV}\% = 23,99$ ,  $\chi^2 = 4,085^{\text{ns}}$ ); Verão ( $\text{CV}\% = 12,66$ ,  $\chi^2 = 3,205^{\text{ns}}$ ). 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.

#### 2.3.1.4 Porcentagem de estacas vivas

A análise de variância demonstrou interação entre os fatores modo de aplicação e concentração para estacas coletadas nas quatro estações do ano, avaliadas aos 180 dias (Anexos 1, 3, 5 e 7) demonstrando que os fatores não são independentes.

Com relação à sobrevivência aos 180 dias, as maiores porcentagens foram obtidas no outono/2005, e os menores na primavera/2005 (Tabela 7). No outono/2005, verificou-se maior porcentagem média de estacas vivas (78,58%) com a aplicação de IBA em solução. A testemunha (86,75%) foi estatisticamente superior

à concentração 3000 mgL<sup>-1</sup> (74,00%), quando utilizada a solução. O mesmo foi verificado em talco, sendo a testemunha (75,25%) superior à concentração 3000 mgkg<sup>-1</sup> (72,00%).

TABELA 7 - Porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* vivas, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e nas quatro estações do ano, avaliadas aos 180 dias. UFPR, Curitiba – PR, 2005 e 2006.

| Estação do ano    | Modo de aplicação | ESTACAS VIVAS (%) |            |           | Médias |
|-------------------|-------------------|-------------------|------------|-----------|--------|
|                   |                   | Concentração      |            |           |        |
|                   |                   | 0                 | 1500       | 3000      |        |
| Outono<br>2005    | Solução           | 86,75 A a         | 75,00 B a  | 74,00 A b | 78,58  |
|                   | Talco             | 75,25 B a         | 74,00 A ab | 72,00 A b | 74,00  |
|                   | Médias            | 81,00             | 74,00      | 73,88     |        |
| Inverno<br>2005   | Solução           | 30,21 B c         | 34,38 A b  | 37,50 A a | 34,03  |
|                   | Talco             | 41,65 A a         | 31,25 B c  | 34,38 B b | 35,76  |
|                   | Médias            | 35,93             | 32,81      | 35,94     |        |
| Primavera<br>2005 | Solução           | 8,33 B b          | 12,50 A a  | 7,29 A b  | 9,37   |
|                   | Talco             | 12,50 A a         | 13,54 A a  | 6,25 A b  | 10,76  |
|                   | Médias            | 10,42             | 13,02      | 6,77      |        |
| Verão<br>2006     | Solução           | 40,96 A a         | 32,29 A b  | 31,25 A b | 34,83  |
|                   | Talco             | 27,08 B a         | 27,08 B a  | 26,05 B a | 26,74  |
|                   | Médias            | 34,02             | 29,69      | 28,65     |        |

Concentração IBA (mgL<sup>-1</sup> ou mgkg<sup>-1</sup>); Outono (CV% = 1,59,  $\chi^2 = 1,753^{ns}$ ); Inverno (CV% = 3,60,  $\chi^2 = 1,269^{ns}$ ); Primavera (CV% = 8,56,  $\chi^2 = 1,577^{ns}$ ); Verão (CV% = 4,13,  $\chi^2 = 1,514^{ns}$ ). 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.

A análise de variância demonstrou interação entre os fatores modo de aplicação e concentração para estacas coletadas nas quatro estações do ano aos 365 dias (Anexos 9, 11, 13 e 15), constatando-se a dependência entre os fatores.

Aos 365 dias após a instalação do experimento as taxas de sobrevivência obtidas foram menores que aquelas obtidas na primeira avaliação (Tabela 8). As porcentagens de sobrevivência foram maiores no outono/2005, inverno/2005 e no verão/2006. No outono/2005 o percentual de estacas vivas significativamente superior foi verificado na testemunha (10,42%) para aplicação em solução. Para o talco houve superioridade da testemunha (8,33%) e da concentração 1500 mgkg<sup>-1</sup> IBA (7,29%) em relação ao tratamento 3000 mgkg<sup>-1</sup> IBA (3,13%).

No inverno/2005 a sobrevivência das estacas foi significativamente superior para a testemunha em talco (13,54%). No verão/2006 as taxas de sobrevivência para a testemunha em solução (14,58%) e para a concentração 3000 mgL<sup>-1</sup> (12,50%) diferiram significativamente da concentração 1500 mgL<sup>-1</sup> (7,29%). Os menores percentuais de sobrevivência foram verificados na primavera/2005, com

médias de 1,72 e 2,08%, para IBA aplicado em talco e em solução, respectivamente (Tabela 8).

A presença de grande quantidade de estacas espinheira-santa vivas não enraizadas na primeira avaliação (180 dias) pode indicar que houve um atraso no enraizamento das estacas, ou ainda, que a permanência por mais tempo no leito de enraizamento poderia resultar em indução do enraizamento (LIMA *et al.*, 2006). Desse modo, no período de tempo existente entre a primeira e a segunda avaliação (6 meses), observou-se redução nas taxas de sobrevivência, em decorrência do aumento na porcentagem de enraizamento das estacas e/ou da mortalidade das mesmas até o momento da avaliação final.

TABELA 8 - Porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* vivas, 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 VIVAS (%) |          |           | Médias |
|-------------------|-------------------|-------------------|----------|-----------|--------|
|                   |                   | Concentração      |          |           |        |
|                   |                   | 0                 | 1500     | 3000      |        |
| Outono<br>2005    | Solução           | 10,42 A a         | 7,29 A b | 7,30 A b  | 8,34   |
|                   | Talco             | 8,33 A a          | 7,29 A a | 3,13 B b  | 6,25   |
|                   | Médias            | 9,38              | 7,29     | 5,21      |        |
| Inverno<br>2005   | Solução           | 4,17 B a          | 6,25 A a | 5,21 A a  | 5,21   |
|                   | Talco             | 13,54 A a         | 4,17 A b | 2,08 A b  | 6,60   |
|                   | Médias            | 8,85              | 5,21     | 3,65      |        |
| Primavera<br>2005 | Solução           | 3,13              | 1,04     | 2,09      | 2,08   |
|                   | Talco             | 4,17              | 0,99     | 0,00      | 1,72   |
|                   | Médias            | 3,65              | 1,02     | 1,04      |        |
| Verão<br>2006     | Solução           | 14,58 A a         | 7,29 A b | 12,50 A a | 11,46  |
|                   | Talco             | 7,29 B ab         | 8,33 A a | 4,17 B b  | 6,60   |
|                   | Médias            | 10,94             | 7,81     | 8,34      |        |

Concentração IBA ( $\text{mgL}^{-1}$  ou  $\text{mgkg}^{-1}$ ); Outono ( $\text{CV}\% = 19,83$ ,  $\chi^2 = 2,492^{\text{ns}}$ ); Inverno ( $\text{CV}\% = 29,69$ ,  $\chi^2 = 3,471^{\text{ns}}$ ); Primavera ( $\text{CV}\% = 32,55$ ,  $\chi^2 = 30,640^*$ ); Verão ( $\text{CV}\% = 23,38$ ,  $\chi^2 = 4,879^{\text{ns}}$ ). 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.

### 2.3.1.5 Porcentagem de estacas com calos

A análise de variância demonstrou interação entre os fatores modo de aplicação e concentração para estacas coletadas nas quatro estações do ano, avaliadas aos 180 dias (Anexos 1, 3, 5 e 7), constatando-se a dependência entre os fatores.

As maiores porcentagens de estacas com calos foram verificadas no verão/2006 e as menores na primavera/2005 (Tabela 9). No verão/2006 a concentração 3000 mgkg<sup>-1</sup> IBA (32,29%) foi significativamente superior às demais quando utilizou-se talco para a aplicação, enquanto que com a utilização de IBA em solução, não houve diferença significativa entre os tratamentos. A aplicação de IBA em talco promoveu a formação de maior porcentagem média de calos na estação verão/2006 (26,74%), seguida do outono/2005 (6,58%) e inverno/2005 (4,52%). Na primavera/2005 foram confirmadas as menores porcentagens médias de calos, 1,39% para solução, e 1,74% para talco. Silva (1999) também relatou maior porcentagem (97,91%) de estacas de espinheira-santa com calos na época de verão, seguida do inverno (82,29%).

TABELA 9 - Porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* com calos, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e nas quatro estações do ano, avaliadas aos 180 dias. UFPR, Curitiba – PR, 2005 e 2006.

| Estação do ano | Modo de aplicação | ESTACAS COM CALOS (%) |           |           | Médias |
|----------------|-------------------|-----------------------|-----------|-----------|--------|
|                |                   | Concentração          |           |           |        |
|                |                   | 0                     | 1500      | 3000      |        |
| Outono 2005    | Solução           | 0,00 B c              | 3,00 A b  | 5,25 A a  | 2,75   |
|                | Talco             | 10,50 A a             | 3,00 A c  | 6,25 A b  | 6,58   |
|                | Médias            | 5,25                  | 3,00      | 5,75      |        |
| Inverno 2005   | Solução           | 1,04 B c              | 4,17 B a  | 2,08 B b  | 2,43   |
|                | Talco             | 2,08 A c              | 6,25 A a  | 5,21 A b  | 4,52   |
|                | Médias            | 1,56                  | 5,21      | 3,65      |        |
| Primavera 2005 | Solução           | 4,17 A a              | 0,00 B b  | 0,00 B b  | 1,39   |
|                | Talco             | 1,04 B a              | 2,08 A a  | 2,08 A a  | 1,74   |
|                | Médias            | 2,61                  | 1,04      | 1,04      |        |
| Verão 2006     | Solução           | 23,96 B a             | 20,83 A a | 20,83 B a | 21,88  |
|                | Talco             | 28,13 A b             | 19,79 A c | 32,29 A a | 26,74  |
|                | Médias            | 26,04                 | 20,31     | 26,56     |        |

Concentração IBA (mgL<sup>-1</sup> ou mgkg<sup>-1</sup>): Outono (CV% = 17,70,  $\chi^2 = 2,817^{ns}$ ); Inverno (CV% = 9,40,  $\chi^2 = 9,228^{ns}$ ); Primavera (CV% = 55,47,  $\chi^2 = 8,710^{ns}$ ); Verão (CV% = 9,11,  $\chi^2 = 9,192^{ns}$ ). 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.

Na análise de variância foi observada interação entre os fatores modo de aplicação e concentração para estacas coletadas no outono e primavera/2005 e verão/2006, confirmando-se a dependência entre os fatores (Anexos 9, 13 e 15). Contudo, para o inverno/2005 não houve interação significativa entre os fatores (Anexo 11). Para a primavera/2005 não foi verificada homogeneidade das variâncias, por isso não foi feita a análise estatística (Anexo 13).

Aos 365 dias as maiores porcentagens de estacas com calos foram verificadas no outono/2005 e as menores na primavera/2005 (Tabela 10). No

outono/2005 observou-se que a concentração 3000 mgL<sup>-1</sup> IBA (14,58%) diferiu significativamente da concentração 1500 mgL<sup>-1</sup> IBA (11,46%) para aplicação em solução. Para a aplicação em talco, constatou-se que a testemunha (16,67%) e o tratamento 1500 mgkg<sup>-1</sup> IBA (14,58%) diferiram significativamente do tratamento 3000 mgkg<sup>-1</sup> IBA (11,46%). No verão/2006 verificou-se diferença significativa entre as concentrações de IBA testadas, sendo a concentração 1500 mgL<sup>-1</sup> IBA (11,46%) em solução e a concentração 3000 mgkg<sup>-1</sup> IBA (10,42%) em talco, estatisticamente superiores aos demais tratamentos.

TABELA 10 - Porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* com calos, 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 COM CALOS (%) |           |           | Médias |
|----------------|-------------------|-----------------------|-----------|-----------|--------|
|                |                   | Concentração          |           |           |        |
|                |                   | 0                     | 1500      | 3000      |        |
| Outono 2005    | Solução           | 12,50 B ab            | 11,46 B b | 14,58 A a | 12,85  |
|                | Talco             | 16,67 A a             | 14,58 A a | 11,46 B b | 14,24  |
|                | Médias            | 14,58                 | 13,02     | 13,02     |        |
| Inverno 2005   | Solução           | 6,25                  | 5,21      | 3,13      | 4,86 A |
|                | Talco             | 8,34                  | 5,21      | 5,21      | 6,25 A |
|                | Médias            | 7,29 a                | 5,21 a    | 4,17 a    |        |
| Primavera 2005 | Solução           | 0,00                  | 0,00      | 1,04      | 0,35   |
|                | Talco             | 1,04                  | 2,33      | 2,09      | 1,82   |
|                | Médias            | 0,52                  | 1,17      | 1,56      |        |
| Verão 2006     | Solução           | 3,12 A c              | 11,46 A a | 7,29 A b  | 7,29   |
|                | Talco             | 4,17 A b              | 4,17 B b  | 10,42 A a | 6,25   |
|                | Médias            | 3,65                  | 7,81      | 8,85      |        |

Concentração IBA (mgL<sup>-1</sup> ou mgkg<sup>-1</sup>); Outono (CV% = 11,81,  $\chi^2 = 2,856^{ns}$ ); Inverno (CV% = 38,36,  $\chi^2 = 1,877^{ns}$ ); Primavera (CV% = 37,48,  $\chi^2 = 25,654^*$ ); Verão (CV% = 27,40,  $\chi^2 = 1,734^{ns}$ ). 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.

Diferenças na intensidade de formação de calos foram verificadas entre as épocas do ano, os tratamentos e o modo de aplicação de IBA. Os calos apresentaram coloração variada, de amarelada, bege, laranja-avermelhada até marrom-alaranjada e formaram-se na base do corte da estaca, bem como logo acima dessa região. A formação de calos não foi observada em todas as estacas de espinheira-santa, portanto, os primórdios radiciais originaram-se ou não das regiões contendo calos. Os processos de formação de calos e de raízes adventícias são fenômenos independentes, embora ambos envolvam divisão celular e sejam influenciados pelos mesmos fatores, podendo ocorrer simultaneamente (HARTMANN *et al.*, 2002). Em algumas espécies de difícil enraizamento, a formação de raízes se dá sobre o calo, embora a formação do calo não seja um prenúncio

seguro da formação de raízes adventícias (HARTMANN *et al.*, 2002; FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005).

### 2.3.1.6 Porcentagem de estacas mortas

A análise de variância revelou interação entre os fatores modo de aplicação e concentração para estacas coletadas no inverno e primavera/2005 e verão/2006, demonstrando a dependência entre os fatores (Anexos 11, 13 e 15). Para a estação outono/2005 não foi verificada interação significativa entre os fatores (Anexo 9).

Para a variável mortalidade aos 180 dias, os maiores percentuais foram observados na primavera/2005, seguida do inverno/2005 e do verão/2006, enquanto que os menores foram verificados no outono/2005 (Tabela 11). Na primavera/2005 e no inverno/2005, a mortalidade média geral foi alta, tanto em solução quanto em talco, sendo, sobretudo superiores nos tratamentos com IBA em solução (87,15% na primavera e 62,50% no inverno). No verão/2006 a maior porcentagem média de estacas mortas foi observada com o uso de talco (25,70%). No outono/2005 as menores médias gerais de mortalidade foram verificadas, sendo de 18,67% e 19,42%, em solução e talco, respectivamente.

TABELA 11 - Porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* mortas, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e nas quatro estações do ano, avaliadas aos 180 dias. UFPR, Curitiba – PR, 2005 e 2006.

| Estação do ano | Modo de aplicação | ESTACAS MORTAS (%) |           |           | Médias  |
|----------------|-------------------|--------------------|-----------|-----------|---------|
|                |                   | Concentração       |           |           |         |
|                |                   | 0                  | 1500      | 3000      |         |
| Outono 2005    | Solução           | 13,25              | 23,00     | 19,75     | 18,67 A |
|                | Talco             | 14,50              | 23,00     | 20,75     | 19,42 A |
|                | Médias            | 13,88 c            | 23,00 a   | 20,25 b   |         |
| Inverno 2005   | Solução           | 66,67 A a          | 60,42 A b | 60,42 A b | 62,50   |
|                | Talco             | 54,17 B c          | 60,42 A a | 57,29 B b | 57,29   |
|                | Médias            | 60,42              | 60,42     | 58,86     |         |
| Primavera 2005 | Solução           | 86,46 A b          | 85,42 A b | 89,58 A a | 87,15   |
|                | Talco             | 81,25 B b          | 82,29 B b | 88,54 A a | 84,03   |
|                | Médias            | 83,85              | 83,85     | 89,06     |         |
| Verão 2006     | Solução           | 21,88 A b          | 26,04 A a | 18,75 B c | 22,22   |
|                | Talco             | 23,96 A b          | 23,96 A b | 29,17 A a | 25,70   |
|                | Médias            | 22,92              | 25,00     | 23,96     |         |

Concentração IBA ( $\text{mgL}^{-1}$  ou  $\text{mgkg}^{-1}$ ); Outono ( $\text{CV}\% = 5,67$ ,  $\chi^2 = 2,624^{\text{ns}}$ ); Inverno ( $\text{CV}\% = 2,48$ ,  $\chi^2 = 1,839^{\text{ns}}$ ); Primavera ( $\text{CV}\% = 1,44$ ,  $\chi^2 = 4,311^{\text{ns}}$ ); Verão ( $\text{CV}\% = 5,86$ ,  $\chi^2 = 4,715^{\text{ns}}$ ). 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.

Na avaliação aos 365 dias, a análise de variância para estacas coletadas no inverno/2005 e verão/2006 permitiu constatar interação significativa entre os fatores modo de aplicação e concentração, demonstrando que os fatores não são independentes (Anexos 11 e 15). Entretanto, para as estações outono e primavera/2005 não foi verificada interação significativa entre os fatores (Anexos 9 e 13).

Os maiores percentuais médios de mortalidade foram observados na primavera/2005 (89,93 e 88,89%, solução e talco), seguida pelo inverno/2005 (71,53 e 68,40%, solução e talco) (Tabela 12). As menores taxas médias de mortalidade foram observadas no verão/2006, estação na qual foram obtidas as maiores porcentagens de enraizamento, sendo 26,74% para o IBA em solução, e 28,82% para IBA em talco. A mortalidade mais elevada no verão/2006 foi observada para o tratamento 3000 mgkg<sup>-1</sup> (32,29%).

Os resultados obtidos para esta variável demonstram grande variação no comportamento dos mesmos tratamentos em épocas diferentes. Ao final do experimento (365 dias), o inverno/2005 apresentou o maior percentual de mortalidade e o verão/2006, o menor. Segundo Hartmann *et al.* (2002) a mortalidade das estacas varia de acordo com as condições intrínsecas destas e com as condições ambientais. A estação do ano em que se realiza a coleta das estacas influencia na mortalidade delas, devido a alteração de seu balanço fisiológico em dias mais curtos ou mais longos (RIBAS, 1993).

A alta mortalidade observada nos experimentos com *M. ilicifolia*, em todas as épocas do ano, pode ter sido causada pela abscisão foliar observada em parte das estacas entre os 60 e os 90 dias após a instalação do experimento. Dick, Bisset e McBeath (1996), obtiveram resultados semelhantes com estacas de *Calliandra calothyrsus*, sendo que a mortalidade foi devida à abscisão foliar ocorrida após a inserção no meio de propagação. A morte das estacas de *C. calothyrsus* pode ter sido ocasionada 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, sendo que o mesmo pode ter ocorrido em estacas de espinheira-santa.

TABELA 12 - Porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* 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<br>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<br>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<br>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<br>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 IBA ( $\text{mgL}^{-1}$  ou  $\text{mgkg}^{-1}$ ); Outono ( $\text{CV}\% = 7,49$ ,  $\chi^2 = 3,165^{\text{ns}}$ ); Inverno ( $\text{CV}\% = 7,50$ ,  $\chi^2 = 3,810^{\text{ns}}$ ); Primavera ( $\text{CV}\% = 9,59$ ,  $\chi^2 = 1,579^{\text{ns}}$ ); Verão ( $\text{CV}\% = 10,69$ ,  $\chi^2 = 1,582^{\text{ns}}$ ). 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.

### 2.3.2 Análises anatômicas

No caule das 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 produz de quatro a seis camadas de súber e duas a três camadas de feloderme (Figuras 3A, 3B e 3C). 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 3D).

O córtex apresentou-se composto por seis a dez camadas de células parenquimáticas com conteúdo denso (compostos fenólicos) (Figuras 3A a 3D). Idioblastos com cristais de oxalato de cálcio foram observados (monocristais prismáticos) tanto nas células do córtex quanto nas da medula (Figura 3E), nas quatro estações do ano, os quais também foram relatados por Jacomassi e Machado (2003) e Duarte e Debur (2005), nas mesmas regiões do caule de *Maytenus ilicifolia*.

As fibras pericíclicas e braquiesclereídes, isoladas ou em pequenos grupos, formaram uma camada quase contínua envolvendo o cilindro vascular de *Maytenus ilicifolia* (Figuras 3A, 3B, 3C e 3F). 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 3D), 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 (Anexos 22 e 23), o que conseqüentemente proporcionou a obtenção dos maiores percentuais de enraizamento (54,52 e 58,34, para solução e talco, respectivamente). Jacomassi e Machado (2003) observaram na região cortical mais interna do caule de *Maytenus ilicifolia*, grupos de fibras e esclereídes, sendo as últimas de formas variadas, com predominância de braquiesclereídes. No entanto, segundo Duarte e Debur (2005) o córtex era limitado por um anel esclerenquimático quase contínuo e composto de fibras e esclereídes. Paiva e Gomes (1993) verificaram que a diferença entre variedades de fácil ou difícil enraizamento pode estar inversamente relacionada com a continuidade da camada de esclerênquima, ou seja, quanto menor a continuidade da camada de fibras no córtex, maior a facilidade de enraizamento da espécie.

A presença de esclereídes e fibras floemáticas constituiu uma barreira anatômica para a emergência dos primórdios radiciais em espinheira-santa (SILVA, 1999). Entretanto, em trabalho realizado com guaco (*Mikania glomerata* Sprengel), Boeger, Alquini e Negrelle (2004) observaram cordões de fibras floemáticas externos ao floema, os quais não foram considerados um impedimento para a formação das raízes.

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 3A a 3D). Internamente ao xilema, encontrava-se a medula, de contorno irregular e formada por células parenquimáticas. 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

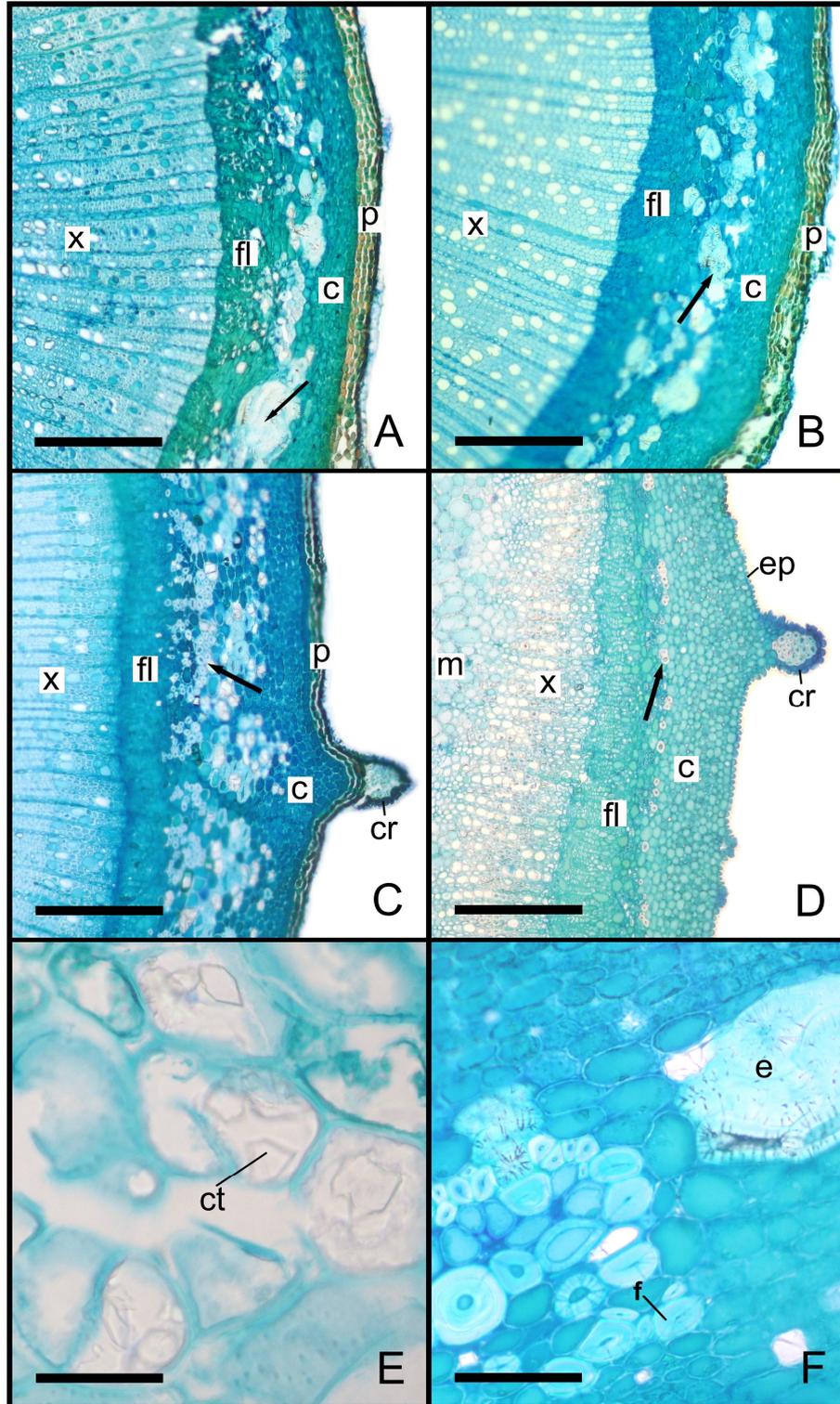


FIGURA 3 - Secções transversais da base das estacas caulinares semilenhosas de *M. ilicifolia*. A. Outono; B. Inverno; C. Primavera; D. Verão. A-C. Visualizar a periderme (p), o córtex (c), o floema (fl), o xilema (x), camada de fibras pericíclicas e braquiesclereídes (→). Barra = 200 µm. C. Visualizar a carena (cr). D. Visualizar a epiderme (ep), carena (cr), 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.

estreitos, como em *Pyrus* sp. (FAHN, 1990) e *Vitis rotundifolia* cv. Topsail (MAYER; BIASI; BONA, 2006), característica esta que foi observada nas secções das bases das estacas de espinheira-santa.

Por meio das análises anatômicas verificou-se que a presença do anel quase contínuo existente no córtex das estacas de espinheira-santa, composto por fibras pericíclicas e braquiesclereídes constitui barreira anatômica ao enraizamento, conforme verificado por Silva (1999) em estacas de *M. aquifolia*. A presença de raios vasculares estreitos no xilema também interfere no processo de enraizamento da espécie. 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 microquímico 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 4A e 5A), bem como no inverno/2005 (Figuras 4B e 5B).

Na primavera/2005 verificou-se a presença de amido nas células do córtex e da medula (Figuras 4C e 5C) e no verão/2006 o mesmo estava presente apenas nas células do córtex (Figuras 4D e 5D). Os resultados obtidos por meio da análise das secções das bases das estacas estão em conformidade com os de Duarte e Debur (2005), os quais afirmaram que as células do parênquima cortical e dos raios do xilema do caule de *Maytenus ilicifolia* podem conter amiloplastos. Com relação à presença de amido nas estacas de espinheira-santa, as observações estão de acordo com Fachinello, Hoffmann e Nachtigal (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 a 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 sem raízes formadas ou com baixa

porcentagem de enraizamento aos 180 dias. 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. Aos 365 dias verificou-se as maiores porcentagens de enraizamento no verão/2006 e no outono/2005. Os ramos coletados no verão/2006 apresentavam-se menos lignificados e, aparentemente estacas coletadas no verão/2006 possuíam visualmente os menores teores de amido. A maior concentração de amido nesta estação foi verificada nas células do córtex, e esta parece ter sido mobilizada 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 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 microquímico 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 e Debur (2005), que relataram a ocorrência de compostos fenólicos no córtex e nos raios do xilema do caule de *Maytenus ilicifolia*. Vários estudos detectaram maior quantidade de compostos fenólicos durante o processo de enraizamento. Devido à sua 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; KRIEKEN; DE JONG, 1999). Maynard e 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 IAA oxidase/peroxidase, o qual promove a destruição do IAA endógeno, reduzindo, conseqüentemente, a indução do enraizamento em estacas.

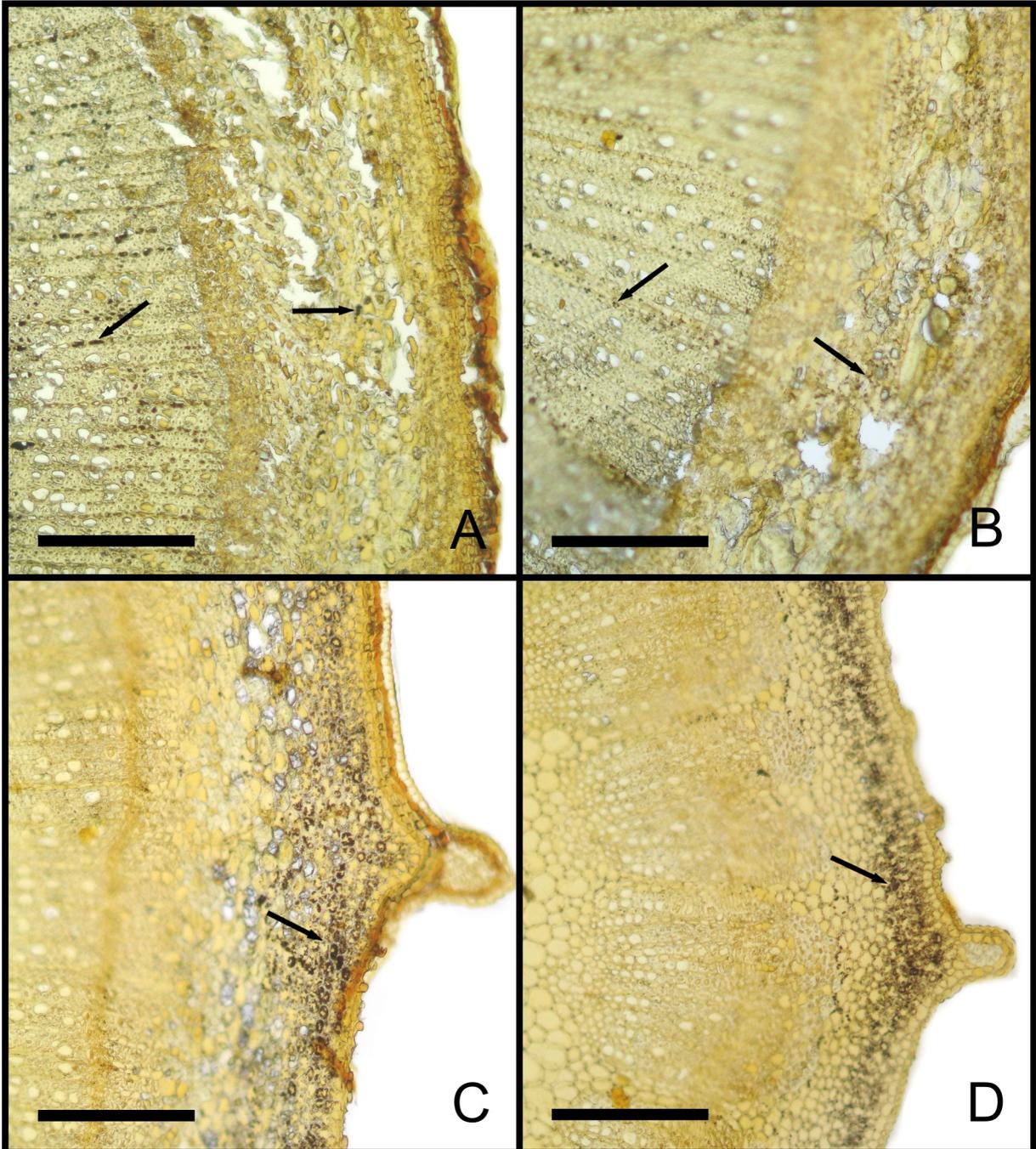


FIGURA 4 - Secções transversais da base das estacas caulinares semilenhosas de *M. ilicifolia*. Teste microquímico para presença de amido. A. Outono. B. Inverno. C. Primavera. D. Verão. Visualizar células do córtex (→) e células dos raios do xilema (←). Barra = 200 μm. UFPR, Curitiba – PR, 2006.

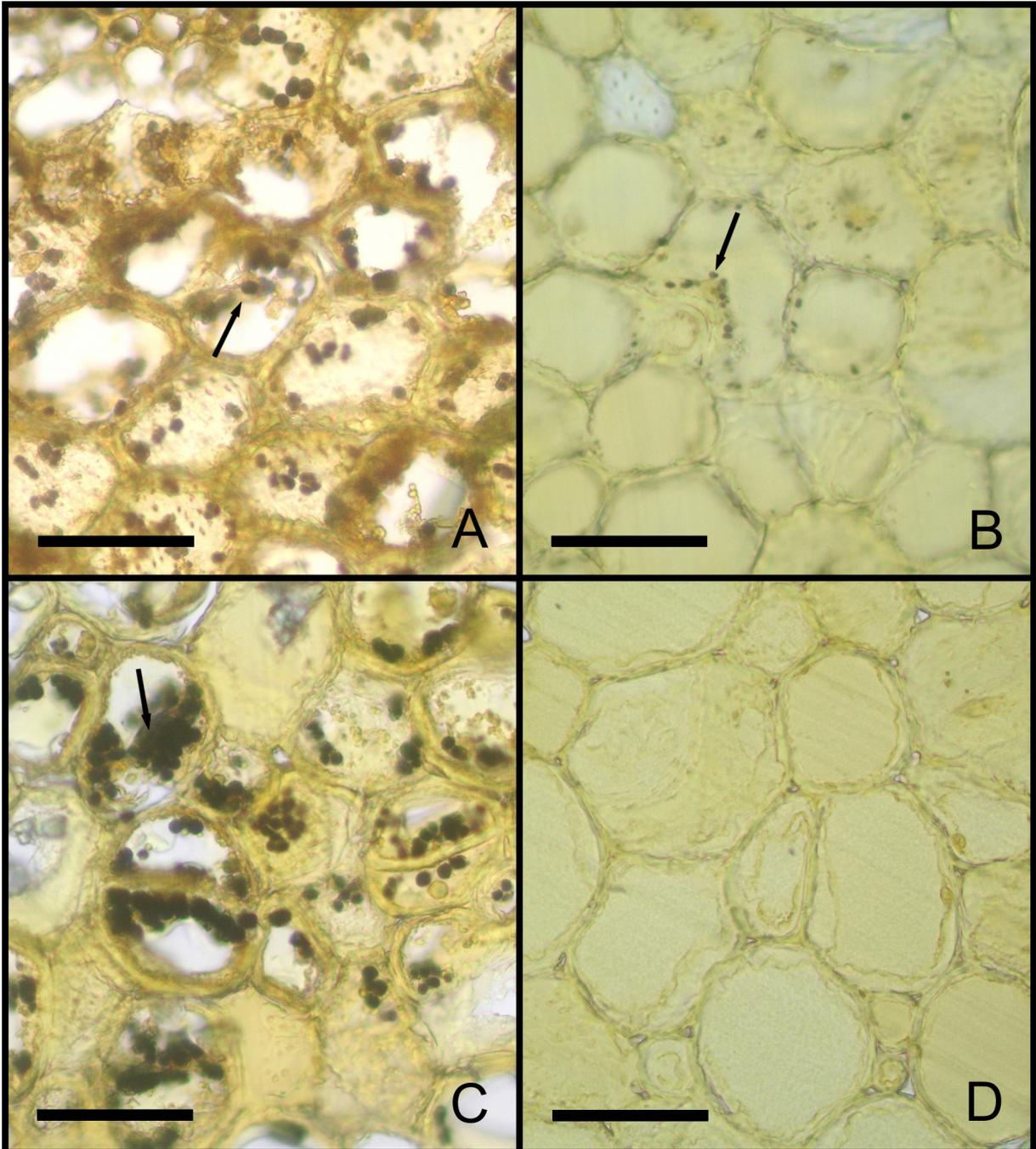


FIGURA 5 - Secções transversais da base das estacas caulinares semilenhosas de *M. ilicifolia*. Teste microquímico para presença de amido. A. Outono. B. Inverno. C. Primavera. D. Verão. Visualizar grãos de amido (→) nas células da medula. Barra = 50  $\mu$ m. UFPR, Curitiba – PR, 2006.

As plantas matrizes utilizadas neste trabalho foram cultivadas a pleno sol, condição esta que pode ter alterado a composição química das mesmas e ter 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 luz sobre a composição fitoquímica. Desse modo, as estacas retiradas de ramos coletados dessas plantas matrizes de espinheira-santa supostamente teriam teores mais elevados de polifenóis, os quais estimulariam a indução de raízes adventícias, pela inativação do complexo enzimático IAA oxidase/peroxidase. Todavia, no presente trabalho essa informação não foi confirmada.

È importante considerar ainda que em presença de luz a produção de compostos fenólicos do grupo dos monofenóis também pode ter sofrido alteração, havendo um aumento na concentração dos mesmos nestas plantas. No entanto, são necessários estudos bioquímicos específicos para identificar esses compostos químicos, 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.

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 entre as duas avaliações realizadas dificultou a observação da indução e da formação de primórdios nas secções das bases das estacas. Desse modo não foi possível verificar o local exato de origem das raízes de espinheira-santa, sendo constatado que a origem provável é externa ao xilema, ocorrendo a partir do câmbio ou do periciclo. Esta observação concorda com a de Silva (1999), a qual sugeriu que os primórdios radiciais de espinheira-santa (*M. ilicifolia*) provavelmente originam-se do câmbio vascular.

Em secções transversais das bases das estacas enraizadas, verificou-se ainda que as raízes formadas apresentavam conexão vascular após 365 dias de permanência no leito de enraizamento (Figuras 6A e 6B). 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; SOARES; GOMES, 1986). A observação da conexão vascular em estacas de espinheira-santa comprova a funcionalidade das raízes formadas, as quais apresentam capacidade de absorção (Figuras 6A e 6B). As células parenquimáticas do córtex das raízes formadas já apresentavam compostos fenólicos (Figura 6A).

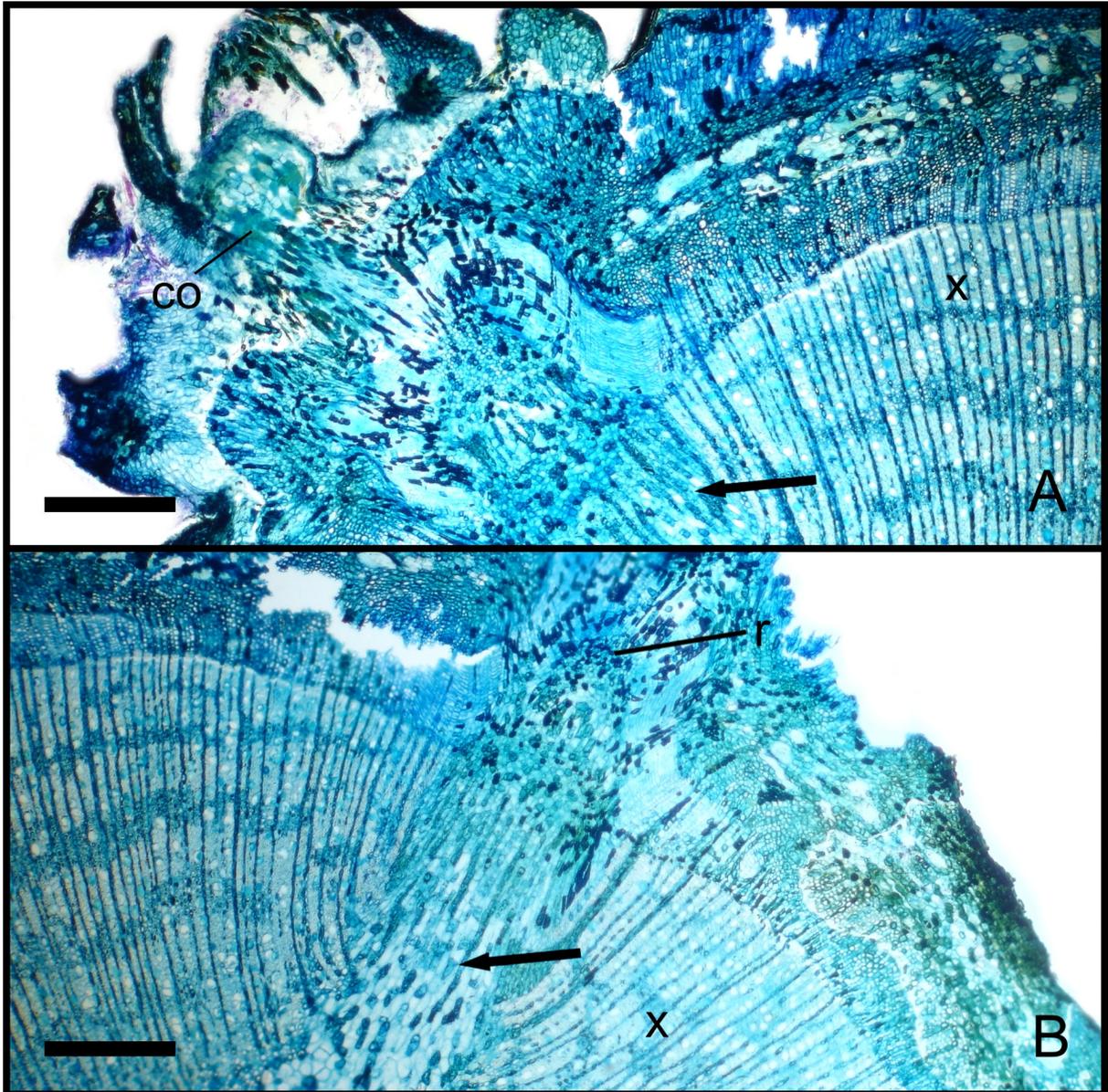


FIGURA 6 - Secções transversais da base das estacas caulinares semilenhosas de *M. ilicifolia*. A. Visualizar a conexão vascular (→) da raiz adventícia, célula com compostos fenólicos na raiz em formação (co) e xilema (x). Barra = 200 µm. B. Visualizar a raiz (r) e a conexão vascular da raiz (→). Barra = 200 µm. UFPR, Curitiba – PR, 2007.

## 2.4 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente experimento, foi possível concluir que:

Estacas semilenhosas de espinheira-santa necessitam permanecer no leito de enraizamento por mais de 180 dias, podendo a espécie ser considerada de difícil ou de lento enraizamento.

Após 365 dias estacas semilenhosas de espinheira-santa não apresentaram estímulo ao enraizamento em decorrência da aplicação de IBA até a concentração de  $3000 \text{ mgL}^{-1}$  ou  $3000 \text{ mgkg}^{-1}$ , em solução ou talco.

A estação mais promissora para o enraizamento de estacas de espinheira-santa foi o verão, devido à utilização de material menos lignificado resultante da realização de poda.

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, mesmo com as maiores porcentagens de enraizamento, no verão os grãos de amido estavam 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.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, D. B.; ROBERTS, A. N. A morphological time scale for predicting potencial in *Rhododendron* cuttings. **American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 91, p. 753-760, 1967.
- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: UFV, 2004. 442 p.
- ALVARENGA, L. R.; CARVALHO, V. D. Uso de substâncias promotoras de enraizamento de estacas frutíferas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 9, n. 101, p. 47-55, 1983.
- 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**, Botucatu, 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 Agrônômica**, Ilha Solteira, v. 7, n. 1, p. 51-63, 1998.
- CARVALHO-OKANO, R. M. **Estudo taxonômico do gênero *Maytenus* Mol. Emend. Mol. (CELASTRACEAE) do Brasil extra-amazônico**. 253 f. Tese (Doutorado em Ciências, Biologia Vegetal) – Setor de Ciências, Universidade de Campinas, Campinas, 1992.
- CARVALHO-OKANO, R. M.; LEITÃO-FILHO, H. de F. O gênero *Maytenus* Mol. emend. Mol. (Celastraceae) no Brasil extra-amazônico. In: REIS, M. S. dos; SILVA, S. R. (Org.) **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**, Piracicaba, v. 51, n. 1, p. 28-35, 1994.
- 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**, New York, v. 35, p. 189-199, 1999.

DICK, J. McP.; BISSET, H.; McBEATH, C. Provenance variation in rooting ability of *Calliandra calothyrsus*. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 87, p. 175-184, 1996.

DOLE, J. M.; WILKINS, H. F. **Floriculture**: principle and species. 1. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1999. 613 p.

DUARTE, M. R.; DEBUR, M.C. S. Stem and leaf morphoanatomy of *Maytenus ilicifolia*. **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 76, p. 41-49, 2005.

DUTRA, L. F., KERSTEN, E.; FACHINELLO, J. C. Época de coleta, ácido indolbutírico e triptofano no enraizamento de estacas de pessegueiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 327-333, 2002.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa produção de informação; Rio de Janeiro: Embrapa solos, 1999. 412 p.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 221 p.

FAHN, A. **Plant anatomy**. Oxford: Pergamon, 1990. 588 p.

FEDER, N.; O'BRIEN, T. P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 55, p. 123-142, 1968.

FERRIANI, A. P. **Estaquia de vassourão-branco (*Piptocarpa angustifolia* Dusén)**. 85 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Produção Vegetal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

FORTES, A. M. T. **Efeito de auxinas e ácido bórico em dois métodos de aplicação no enraizamento de estacas de rosa**. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Julio de Mesquita, Botucatu, 1998.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES JR, R.T.; GENEVE, R.L. **Plant propagation**: principles e practices. 7. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002. 880 p.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ (IAPAR). **Cartas climáticas do estado do Paraná**. Londrina, 1994. 49 p. (Documento 18)

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

JACOMASSI, E. MACHADO, S. R. Características anatômicas de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek 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**, Botucatu, v. 6, n. 1, p. 84-96, 2003.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: MacGraw – Hill, 1940. 523 p.

KERSTEN, E.; TAVARES, S. W.; NACHTIGAL, J. C. Influência do ácido indol butírico no enraizamento de estacas de ameixeira (*Prunus salicina*, Lindl.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 16, n. 1, p. 215-222, 1994.

KOCH, R. C.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; POSSAMAI, J. C. Vegetative propagation of *Passiflora actinia* by semihardwood cuttings. **Semina Ciências Agrárias**, Londrina, v. 22, n. 2, p. 165-167, 2001.

KÖRBES, V. C. **Plantas medicinais**. Francisco Beltrão: Associação de Estudos, Orientação e Assistência Rural, 1995. 188 p.

LIMA, D. M. de; ALCÂNTARA, G. B. de; BORTOLINI, M. F.; FANTI, F. P.; BIASI, L. A.; QUOIRIN, M.; KOEHLER, H. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Substratos e concentrações de ácido naftaleno acético no enraizamento de estacas semilenhosas de *Calliandra selloi* e *Calliandra tweediei*. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 7, n. 1-2, p. 105-111, 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. de A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512 p.

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**, São Paulo, v. 20, n. 3, p. 563-568, 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.; DONI, M. E.; OHLSON, O. C.; HERR, S. Tecnologia de produção de sementes de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. - Celastraceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, 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**, Brasília, v. 19, p. 351-355, 2001.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; McCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. **Protoplasma**, New York, v. 59, n. 2, p. 368-373, 1965.

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

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

PEREIRA, A. M. S. **Micropropagação de *Maytenus aquifolium* Mart. e *Maytenus ilicifolia* Mart. (espinheira-santa)**. 67 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Melhoramento Genético Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1993.

PEREIRA, A. M. S. Micropropagação de *Maytenus aquifolium* Mart. e *Maytenus ilicifolia* Mart. (espinheira-santa). In: MING., L. C. (Coord.); SCHEFFER, M. C.; CORRÊA JÚNIOR, C.; BARROS, I. B. I.; MATTOS, J. K. A. **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. v. 2. Botucatu: UNESP, 1998. p. 19-32.

RADOMSKI, M. I. **Caracterização ecológica e fitoquímica de *Maytenus ilicifolia* Mart., em populações nativas, no município da Lapa – Paraná**. 98 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1998.

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

RIBAS, K. C. **Efeito de auxinas, ácido bórico e suas interações no enraizamento de estacas herbáceas de *Macadamia integrifolia* Maiden & Betche.** 128 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, Botânica) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1993.

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.* (Coord.) **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônoma.** Botucatu: UNESP, 1998. p. 33-51.

SANTOS, C. A. de M.; TORRES, K. R.; LEONART, R. **Plantas medicinais: herbarium flora et scientia.** 2. ed. Curitiba: Scientia et Labor, 1988. p. 50.

SILVA, C. DE P. **Efeitos do ANA, ácido bórico, paclobutrazol e da época de coleta, no enraizamento de estacas caulinares de espinheira-santa (*Maytenus aquifolia* Mart.).** 99 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas, Botânica) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1999.

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

TOFANELLI, M. B. D.; CHALFUN, N. N. J.; HOFFMANN, A.; CHALFUN JÚNIOR, A. Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de ramos semilenhosos de pessegueiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 7, p. 939-944, 2002.

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

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

WILLIAMS, R. F.; BILDERBACK, T. E. Factors affecting rooting of *Rhododendron maximum* and *Kalmia latifolia* stem cuttings. **Hortscience**, Alexandria, v. 15, n. 6, p. 827-828, 1980.

### 3 CAPÍTULO II - MINIESTAQUIA DE ESPINHEIRA-SANTA A PARTIR DE PROPÁGULOS JUVENIS

#### RESUMO

Pertencente à família Celastraceae, a espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*) é uma espécie medicinal de ação antiulcerogênica comprovada, não tóxica e de amplo uso pela população. A produção de mudas por meio da estaquia convencional não tem se mostrado economicamente viável, sendo a espécie considerada de difícil enraizamento. O uso da técnica de miniestaquia vem a ser uma alternativa para a propagação da espécie, uma vez que o material juvenil possui potencial endógeno favorável ao enraizamento. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a produtividade de brotações de minicepas originadas por via sexuada, bem como verificar a resposta de enraizamento de miniestacas de espinheira-santa com o uso de concentrações de ácido indol butírico (IBA), coletadas em diferentes meses do ano. Miniestacas apicais foram coletadas nos meses de novembro/2006, março, junho e setembro/2007, a partir de brotações de minicepas mantidas em casa-de-vegetação e submetidas a tratamentos em água ou em soluções alcoólicas (25% v/v) contendo diferentes concentrações de IBA (0, 250, 500 e 1000 mgL<sup>-1</sup>), por 10 segundos. Aos 90 dias após o plantio, foram avaliadas as variáveis: porcentagem de estacas enraizadas, número e comprimento médio de raízes/estacas, porcentagem de estacas com calos, vivas e mortas. A análise estatística revelou as maiores médias de produtividade de brotações por minicepa nos meses de abril, março e janeiro/2007 (5,55, 5,24 e 4,71, respectivamente). As maiores porcentagens de enraizamento foram obtidas para estacas coletadas no mês de junho/2007, com porcentagem média de 78,13%. Entretanto, o sistema radicial de miniestacas coletadas no mês de setembro apresentou melhor qualidade e uniformidade das raízes (8,71 raízes e comprimento médio de 2,30 cm). No mês de março/2007 foram obtidos os mais baixos percentuais de enraizamento (44,79%). Conclui-se que a propagação vegetativa de espinheira-santa por meio de miniestaquia a partir de propágulos juvenis é viável e o mês mais favorável para a coleta de miniestacas é junho (inverno). A aplicação de IBA apresentou pouca influência no enraizamento de miniestacas de espinheira-santa, não sendo necessária para a formação de raízes em material juvenil coletado em todos os meses testados.

Palavras-chave: Auxina. Enraizamento. *Maytenus ilicifolia*. Miniestacas. Espécie medicinal.

### 3 CHAPTER II - MINICUTTING TECHNIQUE OF *Maytenus ilicifolia* BY JUVENILE MATERIAL

#### ABSTRACT

Belonging to Celastraceae family, *Maytenus ilicifolia* is a medicinal specie have proven antiulcerogenic action, not toxic, and widely used by the population. The seedlings production by cutting has not been feasible, since the specie is considered recalcitrant. The use of minicutting technique has been a good alternative for this specie propagation, since the juvenile material has an endogenous potential, favorable for rooting. The present work aimed to evaluate shoot production of ministrains originated by a sexually way, and to verify the rooting response of *M. ilicifolia* minicutting with the use of different indolebutyric acid concentrations (IBA), collected in different year months. Apical minicuttings were collected on November/2006, March, June and September/2007, from shoots of ministrains kept in greenhouse. They were submitted to treatments in water or in alcoholic solutions (25% v/v), containing different concentrations of IBA (0, 250, 500 and 1000 mg L<sup>-1</sup>), by 10 seconds. At 90 days after planting, were analyzed the variables: percentages of rooting, number and mean length of roots per cutting, percentage of cuttings with callus, survival and necrosis. The statistical analysis showed higher mean shoot productivity by ministrains on April, March and January/2007 (5.55, 5.24 and 4.71 shoots per minicutting, respectively). Higher percentages of rooting were obtained in minicuttings collected on June/2007, with mean percentage of 78.13%. Meanwhile, the root system of minicuttings collected on September presented better root quality and uniformity (8.71 roots per minicutting and mean length of 2.30 cm). On March/2007 were obtained the lowest indexes of rooting (44.79%). Vegetative propagation of *M. ilicifolia* by minicutting using juvenile material is feasible. The most favorable month for minicutting collect is June. The application of IBA present low influence on rooting by minicuttings of *M. ilicifolia*, does not being necessary for root formation in juvenile material collected in all months tested.

Key words: Auxin. Rooting. *Maytenus ilicifolia*. Minicuttings. Medicinal species.

### 3.1 INTRODUÇÃO

*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, Celastraceae, conhecida como espinheira-santa, é uma planta medicinal, cujas folhas são utilizadas pela medicina popular para o tratamento de úlceras no estômago e outros problemas gástricos (SANTOS; TORRES; LEONART, 1988; LORENZI; MATOS, 2002) e por suas propriedades analgésica, cicatrizante das afecções da pele e diurética (KÖRBES, 1995).

Dentre as técnicas de propagação vegetativa mais utilizadas para a produção de mudas de diversas espécies estão a estaquia, a enxertia e a micropropagação. Todavia, a estaquia é a técnica de maior viabilidade econômica, uma vez que permite o estabelecimento de plantios para multiplicação de genótipos selecionados com menor custo e em curto período de tempo (HIGASHI; SILVEIRA; GONÇALVES, 2000; ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001; FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005).

A propagação comercial de mudas de espinheira-santa é realizada com material de origem seminal (CARVALHO *et al.*, 2003). De acordo com Silva (1999) a estaquia poderia ser um método eficiente para a propagação de espinheira-santa e obtenção de material homogêneo, com caracteres genéticos desejáveis, produzidos a partir de plantas matrizes selecionadas. Entretanto, a propagação vegetativa comercial de espinheira-santa por estaquia tem sido limitada pela dificuldade de enraizamento de material proveniente de plantas matrizes adultas, mesmo com a aplicação de auxinas, e pela ausência de informações com relação aos aspectos fisiológicos da espécie. Além disso, os estudos sobre a produção de mudas e as técnicas de propagação vegetativa de maior eficiência para tal são escassos, bem como as informações sobre o posterior estabelecimento de plantios comerciais.

O conhecimento dos fatores que afetam a formação de raízes e suas implicações está relacionado ao sucesso ou ao fracasso da produção de mudas via enraizamento adventício. O enraizamento de espécies lenhosas é dependente do genótipo, portanto, espécies, híbridos e mesmo diferentes clones podem requerer condições de cultivo diferenciadas (CUNHA, 2006). Diversos fatores influenciam a propagação de plantas por estaquia no crescimento e diferenciação das raízes, tais como a espécie, presença de indutores e inibidores de enraizamento, juvenilidade

das brotações, presença de gemas e/ou folhas, período de coleta das estacas, período de dormência, estado nutricional das plantas matrizes, variações nas condições climáticas e sanidade (HARTMANN *et al.*, 2002).

A dificuldade de enraizamento de espécies como espinheira-santa envolve fatores relacionados com a própria planta ou com condições ambientais. Nesses casos a utilização de reguladores vegetais é recomendada para promover a formação de raízes adventícias, contribuindo desse modo para o aumento da porcentagem de enraizamento e melhoria da uniformidade e da qualidade do sistema radicial formado (HARTMANN *et al.*, 2002). Dentre as auxinas conhecidas, o ácido indol butírico (IBA) é o mais utilizado por ter maior estabilidade química, ser mais ativo e menos tóxico para as plantas (PAIVA; GOMES, 1993).

A juvenilidade do material a ser propagado é um dos fatores que mais interfere no processo de enraizamento. A maturação do material vegetal em plantas lenhosas é decorrente das alterações morfológicas, bioquímicas e fisiológicas que determinam a resposta dos propágulos vegetativos ao ambiente de propagação. Estacas provenientes de plantas matrizes adultas fornecem material vegetativo com maior dificuldade de enraizamento (HARTMANN *et al.*, 2002), e isso se manifesta com mais freqüência em espécies de difícil enraizamento.

A dificuldade de enraizamento possivelmente está relacionada ao aumento do conteúdo de inibidores e à diminuição do conteúdo de co-fatores de enraizamento, à medida que aumenta a idade da planta (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005). Nesse caso, são necessárias técnicas de rejuvenescimento capazes de resgatar as condições favoráveis ao enraizamento (HIGASHI; SILVEIRA; GONÇALVES, 2000). O rejuvenescimento pode ser alcançado pela aplicação de citocininas (HARTMANN *et al.*, 2002) ou por técnicas como poda drástica (CARPANEZZI; TAVARES; SOUSA, 2001), propagação seriada via enxertia (HIGASHI; SILVEIRA; GONÇALVES, 2000), propagação seriada via estaquia (WENDLING; XAVIER; PAIVA, 2003), micropropagação (SANTOS *et al.*, 2005) ou ainda miniestaquia (WENDLING, 1999; XAVIER *et al.*, 2003).

A miniestaquia é uma técnica que vem sendo utilizada com sucesso no processo de propagação clonal em *Eucalyptus*, a qual surgiu de um aprimoramento da estaquia para contornar as dificuldades de enraizamento de alguns clones (XAVIER *et al.*, 2003). Em *Eucalyptus* sp a propagação clonal pela técnica de miniestaquia já é realidade em várias empresas florestais. Os resultados obtidos

com a miniestaquia têm apontado diversas vantagens em relação à estaquia convencional na produção de mudas de *Eucalyptus*, como a redução da área necessária para a formação do minijardim clonal, redução dos custos com transporte, coleta das brotações e maior eficiência das atividades de manejo. Além disso, proporciona maior percentual de enraizamento e maior velocidade de emissão das raízes, bem como melhor qualidade do sistema radicial formado (XAVIER *et al.*, 2003; SANTOS *et al.*, 2005).

A produtividade de brotações por minicepa e por coleta depende do sistema de cultivo e da forma de condução das minicepas, bem como da concentração e da frequência da aplicação de nutrientes. De modo geral, o maior volume dos recipientes possibilita a formação de maior volume de raízes por minicepa e, conseqüentemente, proporciona aumento da produtividade de brotações e menores intervalos entre as coletas de miniestacas. Quanto à nutrição, deve ser realizada com maior frequência e em menor concentração por aplicação, para maior aproveitamento dos nutrientes pelas minicepas (WENDLING, FERRARI; DUTRA, 2005).

A qualidade da muda usada em plantios comerciais influencia o sucesso de qualquer programa de desenvolvimento florestal e, para algumas espécies, já existem conhecimentos científicos e experiências suficientes na implementação do processo produtivo (XAVIER; SANTOS; OLIVEIRA, 2003; BRONDANI *et al.*, 2007). As informações técnicas sobre a produção de mudas de espécies nativas florestais como o cedro-rosa (XAVIER *et al.*, 2003) e a erva-mate (WENDLING; DUTRA; GROSSI, 2007; BRONDANI *et al.*, 2007), via miniestaquia são escassas, situação em que a espinheira-santa também se encontra, sendo este um fator limitante ao avanço de sua silvicultura.

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a produtividade de brotações de minicepas originadas por via sexuada, bem como verificar a resposta de enraizamento de miniestacas de espinheira-santa com o uso de diferentes concentrações de IBA, coletadas em diferentes meses dos anos de 2006 e 2007.

### 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Frutos de espinheira-santa foram coletados de plantas matrizes de uma área cultivada existente na Estação Experimental do Canguiri, no mês de janeiro de 2006. A Estação possui 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.

O solo é caracterizado como Cambissolo Háplico Tb Distrófico latossólico, com horizonte A proeminente e textura argilosa (EMBRAPA, 1999). O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é classificado como Cfb, mesotérmico úmido sem estação seca definida, com temperatura mínima média de 12,5°C e temperatura máxima média de 22,5°C, estando sujeito a geadas severas (mais de cinco por ano). A precipitação média anual da região é de 1400 a 1500 mm, sendo os meses de abril e maio os mais secos com média de 75 a 100 mm (IAPAR, 1994).

As sementes foram retiradas dos frutos maduros, sendo retirado também o arilo de cada uma delas. A semeadura foi realizada no dia seguinte à coleta, em bandeja contendo vermiculita de granulometria fina mantida em casa-de-vegetação com irrigação intermitente com intervalo de rega de 15 segundos a cada 15 minutos, das 8h às 17h; 15 segundos a cada hora, das 17h às 23h e 15 segundos a cada 3 horas, das 23h às 8h.

A germinação foi iniciada aos 22 dias e estendeu-se até os seis meses após a semeadura (Figuras 7A, 7B e 7C). Das plântulas produzidas três meses após a semeadura (abril/2006) foram selecionadas 300, com altura de aproximadamente 4 a 5 cm, as quais foram transplantadas para vasos de polietileno (3000 cm<sup>3</sup>) contendo mistura de Plantmax HT<sup>®</sup>:solo:vermiculita (1:1:1 v/v/v), com duas plântulas por vaso (Figuras 7D e 7E).

Os vasos foram mantidos em casa-de-vegetação sem irrigação intermitente (Figura 7F) e irrigados manualmente sempre em sua capacidade de campo. As plântulas receberam fertirrigação quinzenal com solução aquosa contendo 4 gL<sup>-1</sup> de sulfato de amônio, 10 gL<sup>-1</sup> de superfosfato simples, 4 gL<sup>-1</sup> de cloreto de potássio e 1 gL<sup>-1</sup> de FTE BR12 (9% Zn, 3% Fe, 2% Mn, 0,1% Mo, 1,8% B, 0,8% Cu), sendo

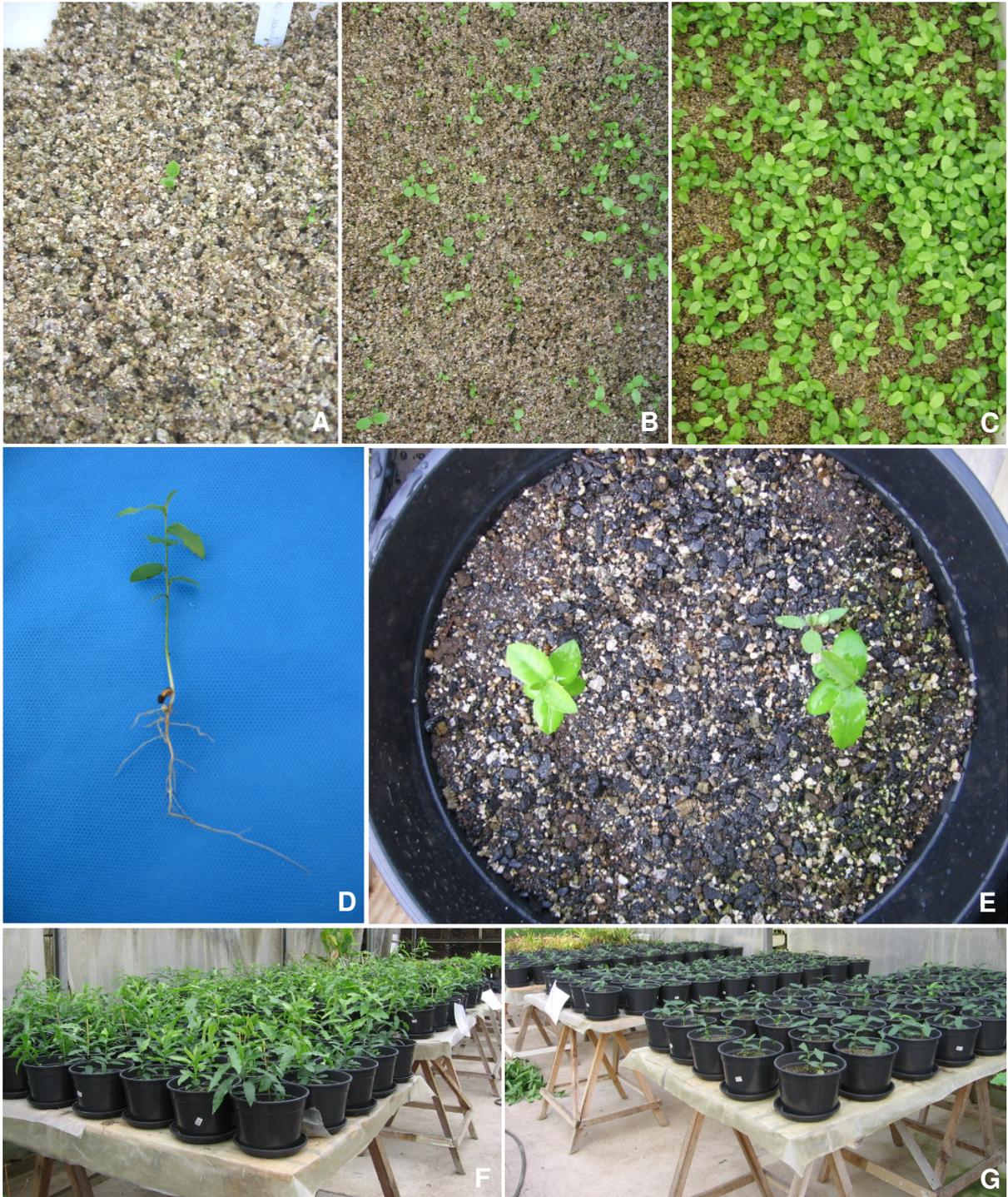


FIGURA 7 - Germinação das sementes e transplante de mudas de espinheira-santa A. Aos 28 dias após a sementeira. B. Aos 40 dias após a sementeira. C. Aos 70 dias após a sementeira. D. Detalhe da muda a ser transplantada. E. Transplante aos 90 dias após a sementeira. F. Mudanças aos 195 dias após o transplante. G. Poda para conversão das mudas em minicepas.

6 mL/plântula. A aplicação de solução contendo nutrientes foi realizada até o momento de conversão das mudas em minicepas, não sendo mantida durante as coletas de brotações.

### 3.2.1 Produtividade de brotações

Aos 6 meses e 15 dias após o transplante (outubro/2006), as plantas com altura variando entre 10 e 35 cm tiveram seus ápices podados a uma altura média de 5 a 10 cm do colo, mantendo-se dois ou três pares de folhas, para a indução de brotações e conversão destas em minicepas, caracterizando um minijardim clonal (Figura 7G). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 7 datas de coleta, 15 repetições de 10 vasos por parcela e cada vaso contendo 2 plantas.

O monitoramento da emissão de brotações/minicepa foi realizado semanalmente. Foram realizadas sete coletas consecutivas para verificação da produção de miniestacas/minicepa/coleta, as quais foram feitas de acordo com a formação de material vegetativo suficiente para a instalação do experimento em cada um dos quatro meses do ano e também nos intervalos entre as instalações (Figuras 8A e 8B).

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. Para a realização da análise estatística foi utilizado o programa MSTAT-C<sup>®</sup>, versão 2.10 (Russel D. Freed, MSTAT Director, Crop and Soil Science Department, Michigan State University, E.U.A).



FIGURA 8 - Miniestaquia de espinheira-santa. A. Minicepas com brotações em casa-de-vegetação. B. Detalhe das brotações na minicepa. C. Coleta de brotações. D. Confeção das miniestacas. E. Experimento instalado. UFPR, Curitiba – PR, 2006.

### 3.2.2 Enraizamento de miniestacas

A instalação dos experimentos foi feita de acordo com a formação de quantidade suficiente de brotações de espinheira-santa, sendo realizada nos meses de novembro (30/11/06), março (02/03/07), junho (26/06/07) e setembro (28/09/07). Miniestacas apicais foram coletadas a partir das brotações das minicepas e confeccionadas com 2,5 a 5 cm de comprimento, mantendo-se o ápice e um par de folhas desenvolvidas com a superfície reduzida à metade (Figuras 8C e 8D). Após a coleta foram acondicionadas em bandeja contendo água para evitar perdas por desidratação. Não foi realizado tratamento fitossanitário.

As bases das miniestacas foram imersas em água ou em soluções alcoólicas (25% v/v) contendo diferentes concentrações de IBA (0, 250, 500 e 1000 mgL<sup>-1</sup>), por 10 segundos. Ambos os tratamentos, água e solução alcoólica 25%, foram considerados testemunhas nos experimentos. O plantio foi realizado em tubetes de polipropileno (53 cm<sup>3</sup>) contendo Plantmax HT<sup>®</sup> (Figura 8E). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 5 tratamentos e 4 repetições de 24 estacas por parcela, com arranjo fatorial de 5 x 4 (5 concentrações de IBA x 4 meses do ano)

As miniestacas foram mantidas em casa-de-vegetação com irrigação intermitente e tempo de rega de 15 segundos a intervalos de 15 minutos, das 8h às 17h; 15 segundos a cada hora, das 17h às 23h e 15 segundos a cada 3 horas, das 23h às 8h. Aos 90 dias após o plantio, foram avaliadas as variáveis: porcentagem de miniestacas enraizadas (miniestacas que apresentaram pelo menos uma raiz, podendo ou não apresentar calos); porcentagem de miniestacas vivas (miniestacas que não formaram calos nem raízes); porcentagem de miniestacas com calos (apresentaram a formação de calos, mas sem o enraizamento); porcentagem de miniestacas mortas (miniestacas que apresentaram necrose em toda ou na maior parte de sua extensão), número médio de raízes e comprimento das três maiores raízes formadas por miniestaca (cm).

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. Para a realização da análise estatística foi utilizado o programa MSTAT-C<sup>®</sup>, versão 2.10 (Russel D. Freed, MSTAT Director, Crop and Soil Science Department, Michigan State University, E.U.A).

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.3.1 Produtividade de brotações

Os resultados obtidos revelaram que a produção média de miniestacas de espinheira-santa por minicepa variou de 3,16 a 5,50, com uma média geral de 4,17, em recipientes contendo 3000 cm<sup>3</sup> de substrato e em coletas realizadas a intervalos médios de 48 dias (Tabela 13). Os resultados constatados para espécies nativas são bastante variáveis e, em vista disso, a produtividade de brotações observada neste trabalho pode ser considerada boa, quando comparada a outros experimentos, como o de cedro-rosa (*Cedrela fissilis*), no qual Xavier *et al.* (2003) verificaram uma produção média de 1,3 miniestacas/minicepa/coleta, com a utilização de tubetes de 55 cm<sup>3</sup>. Já para a miniestaquia de erva-mate em tubetes de 110 cm<sup>3</sup> e em sistema semi-hidropônico foram obtidas 4,4 miniestacas/minicepa (WENDLING; DUTRA; GROSSI, 2007).

TABELA 13 - Produtividade média de brotações de *M. ilicifolia* por minicepa, em cada coleta, nos anos de 2006 e 2007. UFPR, Curitiba – PR, 2006 e 2007.

| COLETA                              | DATA       | INTERVALO DE COLETA (DIAS) | PRODUTIVIDADE MÉDIA |                          |
|-------------------------------------|------------|----------------------------|---------------------|--------------------------|
|                                     |            |                            | BROTAÇÕES/MINICEPA  | BROTAÇÕES/m <sup>2</sup> |
| 1                                   | 29/11/2006 | 37                         | 3,58 c              | 143,20                   |
| 2                                   | 25/01/2007 | 56                         | 4,71 b              | 188,27                   |
| 3                                   | 02/03/2007 | 35                         | 5,24 ab             | 209,46                   |
| 4                                   | 20/04/2007 | 45                         | 5,55 a              | 221,33                   |
| 5                                   | 25/06/2007 | 66                         | 3,76 c              | 148,53                   |
| 6                                   | 27/09/2007 | 92                         | 3,21 c              | 124,53                   |
| 7                                   | 27/12/2007 | 90                         | 3,16 c              | 113,87                   |
| Média geral                         |            | 48                         | 4,17                | 164,17                   |
| Teste de Bartlett (x <sup>2</sup> ) |            | 10,041 <sup>ns</sup>       |                     |                          |
| CV (%)                              |            | 11,31                      |                     |                          |

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade.

Ainda em relação à produtividade de brotações em espécies nativas, Ferriani (2006) verificou para o vassourão-branco (*Piptocarpa angustifolia*) a produção média de 1,86 miniestacas/minicepa/coleta, em recipientes contendo 1700 cm<sup>3</sup> de substrato, bem como Ferreira (2008) obteve para o leiteiro (*Sapium glandulatum*)

uma produção média de 1,9 miniestacas/minicepa/coleta, utilizando recipientes contendo 205 cm<sup>3</sup> de substrato.

A produtividade média de brotações obtida para espinheira-santa foi promissora quando comparada a outras espécies nativas. Entretanto, quando se compara estes dados àqueles apresentados em estudos com sistemas de miniestaquia mais consolidados, como em minicepas de *Eucalyptus* sp, constata-se que a produtividade pode ser otimizada em sistema semi-hidropônico, com produção de até 9,7 miniestacas/minicepa por mês (TITON *et al.*, 2003). Já para minicepas de *Eucalyptus benthamii* plantadas em tubetes e em canaletão de areia, a produtividade média foi de 4,1 e 8,1 miniestacas/minicepa, respectivamente, em coletas realizadas a cada 25 ou 30 dias (CUNHA; WENDLING; SOUZA JÚNIOR, 2005).

A espinheira-santa é uma espécie de crescimento lento e, devido a esta característica e às alterações metabólicas decorrentes das mudanças ambientais verificadas ao longo dos meses do ano, houve variação no número de dias entre os períodos de coleta de miniestacas (Tabela 13). De acordo com Cunha, Wendling e Souza Júnior (2005) um maior intervalo entre as coletas pode ser de grande interesse uma vez que há redução do número de intervenções sobre as minicepas, diminuindo estresses constantes e o consumo de mão-de-obra durante o processo de produção de mudas.

A produtividade de brotações de qualidade e de alto vigor é extremamente importante para a realização da técnica de miniestaquia, pois quanto maior a produção de material juvenil, maior a possibilidade de obtenção de miniestacas enraizadas e de mudas formadas, conforme observado por Wendling e Xavier (2003). Inicialmente observou-se maior intensidade de crescimento das brotações durante os primeiros seis meses após a conversão das mudas em minicepas, período este compreendido entre a primavera e o outono, ou seja, nos meses de temperaturas mais elevadas (Anexos 20 e 21).

Verificou-se ainda neste mesmo período, um aumento no número médio de brotações por minicepa, durante as quatro primeiras coletas, com posterior queda na produtividade a partir da quinta coleta (Tabela 13). Wendling, Dutra e Grossi (2007) também observaram aumento da produtividade de brotações por minicepa de erva-mate da primeira à quarta coleta, com posterior queda da quinta à sétima coleta, seguida de aumento até a última coleta (11<sup>a</sup>). Este comportamento cíclico entre as

diferentes coletas está de acordo com os resultados obtidos para minicepas de *Eucalyptus* sp (TITON *et al.*, 2003).

A partir da quarta coleta também constatou-se a mortalidade de algumas minicepas, porcentagem esta que teve aumento constante até última coleta, variando de 0,33 a 10,00%, totalizando 30 minicepas mortas ao final do trabalho. A redução da produtividade de brotações/minicepa pode ser justificada pela mortalidade crescente das minicepas, pela possível exaustão das mesmas por meio da realização de podas sucessivas e drásticas para a redução da área foliar, ou ainda pelo esgotamento de nutrientes do substrato, devido a ausência de adubação durante todo o período. De acordo com HARTMANN *et al.* (2002) a nutrição e o estado hídrico estão entre os fatores de fundamental importância na manutenção e vigor da planta matriz.

Embora a ocorrência de mortalidade tenha sido verificada em minicepas de espinheira-santa, a sobrevivência de 90,00% destas e a considerável produção de miniestacas por meio de podas e coletas sucessivas demonstra a viabilidade técnica da miniestaquia para a extração contínua de propágulos vegetativos para a produção de mudas, confirmando assim as observações de Higashi, Silveira e Gonçalves (2000). Cunha, Wendling e Souza Júnior (2005) também verificaram mortalidade em minicepas de *Eucalyptus benthamii* no sistema de hidropônico em canaletão de areia (12,00%), não havendo mortalidade nas minicepas cultivadas em sistema de tubetes. Entretanto, devido à elevada taxa de sobrevivência (88,00 e 100,00%, respectivamente), os dois sistemas de minijardim clonal adotados foram considerados eficientes e tecnicamente viáveis.

O emprego da técnica de miniestaquia para a propagação de espinheira-santa necessita de outros estudos relacionados à adubação e a sistemas mais adequados para a manutenção das minicepas (hidropônico, semi-hidropônico), uso de diferentes recipientes (tubetes) e substratos, permitindo a otimização da produtividade de brotações, os ajustes e a sustentabilidade do sistema de jardim miniclinal.

### 3.3.2 Enraizamento de miniestacas

A discussão dos resultados do enraizamento de miniestacas foi realizada por variável e, dentro de cada variável, pelos meses do ano, nos quais foram realizadas as coletas de brotações e instalados os experimentos.

Os resultados do Teste de Bartlett revelaram a homogeneidade das variâncias para as variáveis analisadas, exceto para a variável porcentagem de estacas com calos, não obtida nem por meio da transformação dos dados. Desse modo, somente as médias da porcentagem de calos são apresentadas na Tabela 18.

#### 3.3.2.1 Porcentagem de miniestacas enraizadas

A análise estatística revelou que a interação entre os fatores meses do ano e concentrações de IBA foi estatisticamente significativa, demonstrando a dependência dos fatores testados (Anexo 16).

Os maiores percentuais de enraizamento foram obtidos para as miniestacas coletadas nos meses de junho/2007, novembro/2006 e setembro/2007, respectivamente, e os menores no mês de março/2007 (Tabela 14).

TABELA 14 - Porcentagem de miniestacas de *M. ilicifolia* enraizadas sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e em quatro meses do ano, avaliadas aos 90 dias após a instalação do experimento. UFPR, Curitiba – PR, 2006 e 2007.

| Meses do ano                   | MINIESTACAS ENRAIZADAS (%)          |    |               |     |       |      |       |    |       |     | Médias               |
|--------------------------------|-------------------------------------|----|---------------|-----|-------|------|-------|----|-------|-----|----------------------|
|                                | Concentrações IBA mgL <sup>-1</sup> |    |               |     |       |      |       |    |       |     |                      |
|                                | Água                                |    | Sol. alc. 25% |     | 250   |      | 500   |    | 1000  |     |                      |
| Novembro/2006                  | 62,50                               | Bc | 64,59         | Bbc | 66,67 | Babc | 70,84 | Ba | 67,71 | Bab | 66,46                |
| Março/2007                     | 54,17                               | Ca | 36,46         | Cc  | 52,08 | Ca   | 35,42 | Cc | 45,83 | Cb  | 44,79                |
| Junho/2007                     | 73,96                               | Ab | 81,25         | Aa  | 79,17 | Aa   | 79,17 | Aa | 77,09 | Aab | 78,13                |
| Setembro/2007                  | 65,63                               | Ba | 67,71         | Ba  | 69,79 | Ba   | 69,79 | Ba | 45,83 | Cb  | 63,75                |
| Médias                         | 64,06                               |    | 62,50         |     | 66,93 |      | 63,80 |    | 59,12 |     |                      |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                                     |    |               |     |       |      |       |    |       |     | 25,817 <sup>ns</sup> |
| CV (%)                         |                                     |    |               |     |       |      |       |    |       |     | 3,99                 |

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna, para meses do ano, e da mesma letra minúscula na linha, para concentrações, não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade.

De acordo com a comparação de médias para os meses do ano verificou-se diferença significativa, sendo que as miniestacas coletadas no mês de junho/2007 destacaram-se com a maior porcentagem média de enraizamento obtida (78,13%). Verificou-se diferença significativa entre os tratamentos com solução alcoólica a 25%, 250 e 500 mgL<sup>-1</sup> IBA (81,25, 79,17 e 79,17%, respectivamente) quando comparados à testemunha água (73,96%) no mês de junho/2007. Resultados semelhantes foram obtidos por Ferreira (2008) em miniestacas de leiteiro (*Sapium glandulatum*), nas quais o enraizamento chegou a 80,56% para a testemunha.

Estes resultados foram superiores àqueles obtidos em estacas herbáceas de espinheira-santa (*M. aquifolia*), no qual Silva (1999) obteve no outono (maio) a maior porcentagem de enraizamento (19,79%) para a testemunha (água), aos 6 meses após a instalação do experimento. Todavia, a porcentagem de enraizamento obtida para a testemunha no inverno (agosto) foi de 11,46%, enquanto que com a aplicação de auxinas a taxa chegou a 51,04%. Sendo assim, o inverno foi a época considerada mais adequada para o enraizamento de espinheira-santa (*M. aquifolia*), resultado este confirmado no presente trabalho para miniestacas de *M. ilicifolia* coletadas em junho.

Depois do mês de junho/2007, os meses de novembro/2006 (66,46%) e setembro/2007 (63,75%) apresentaram as melhores porcentagens médias de enraizamento (Tabela 14; Figuras 9A e 9B). Para o mês de novembro/2006 o tratamento 500 mgL<sup>-1</sup> IBA (70,84%) diferiu significativamente da testemunha água (62,50%), não sendo verificada diferença significativa entre os demais tratamentos. Em setembro/2007, as maiores porcentagens de enraizamento foram obtidas nos tratamentos testemunha (65,63%), solução alcoólica 25% (67,71%), 250 e 500 mgL<sup>-1</sup> IBA (69,79%), os quais diferiram significativamente do tratamento 1000 mgL<sup>-1</sup> IBA (45,83%). Em estacas herbáceas de espinheira-santa (*M. aquifolia*) a porcentagem de enraizamento observada para a testemunha foi de 23,95% na primavera (dezembro) (SILVA, 1999).

Em comparação com os outros meses, o mês de março/2007 apresentou os mais baixos percentuais de enraizamento (média de 44,79%). As maiores porcentagens obtidas foram para a testemunha (54,17%) e para o tratamento 250 mgL<sup>-1</sup> IBA (52,08%), as quais apresentaram diferença significativa em relação aos

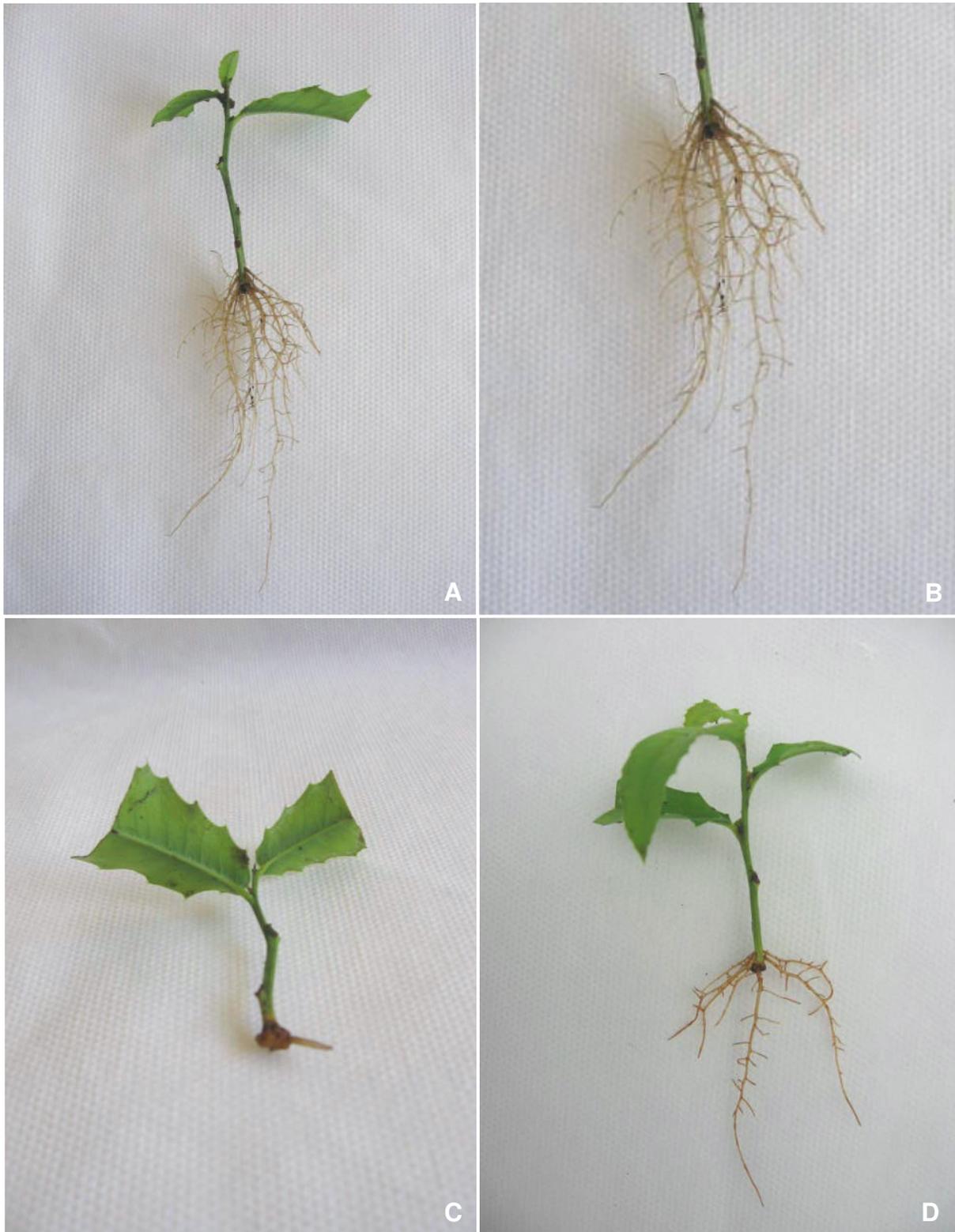


FIGURA 9 - Miniestacas de espinheira-santa coletadas em novembro/2006. A. Miniestaca enraizada aos 90 dias. B. Detalhe do sistema radicial. C. Miniestaca com calo e raiz. D. Miniestaca com novo par de folhas expandido. UFPR, Curitiba – PR, 2007.

demais tratamentos. A menor taxa de enraizamento de todos os meses de coleta de miniestacas foi constatada neste mês, para o tratamento 500 mgL<sup>-1</sup> IBA (35,42%).

As diferenças significativas verificadas entre a testemunha solução alcoólica (81,25%) e a testemunha água (73,96%) em junho/2007 e em março/2007 (54,17% e 36,46%, para água e solução alcoólica, respectivamente) na porcentagem de enraizamento (Tabela 14), provavelmente é devida à variabilidade genética dos propágulos juvenis coletados de minicepas oriundas de sementes.

Entretanto, os resultados de enraizamento do presente trabalho foram superiores aos obtidos para espinheira-santa (*M. aquifolia*) no verão (fevereiro), estação na qual foi verificado o menor percentual de enraizamento para a testemunha (9,37%), e mesmo com a aplicação de auxina o enraizamento chegou a 21,87% (SILVA, 1999). Vários são os fatores que podem limitar o enraizamento adventício, principalmente em espécies de difícil enraizamento. A diminuição da atividade metabólica das miniestacas de espinheira-santa coletadas no final do verão ou no outono pode ser uma das causas responsáveis pela baixa porcentagem de enraizamento ou pela ausência do mesmo. O enraizamento está relacionado aos níveis endógenos de auxina, carboidratos e proteínas, os quais são variáveis entre as diferentes estações do ano (FERRIANI *et al.*, 2006).

Em miniestacas de espinheira-santa verificou-se diferença significativa entre as concentrações de IBA no mês de novembro/2006, onde o tratamento 500 mgL<sup>-1</sup> IBA (70,84%) diferiu significativamente da testemunha (62,50%) e no mês de junho/2007, entre os tratamentos solução alcoólica 25%, 250 e 500 mgL<sup>-1</sup> IBA (81,25, 79,17 e 79,17%, respectivamente) quando comparados à testemunha (73,96%). Tonietto, Fortes e Silva (2001) obtiveram os menores percentuais de enraizamento de miniestacas de ameixeira (*Prunus salicina*) cultivar Pluma 7 com a testemunha (30,00%), sendo necessária a aplicação de 2000 mgL<sup>-1</sup> IBA para a promoção do enraizamento (99,00%).

No mês de março/2007 a testemunha e o tratamento 250 mgL<sup>-1</sup> IBA diferiram significativamente dos demais tratamentos. Já no mês de setembro/2007 os demais tratamentos diferiram significativamente do tratamento 1000 mgL<sup>-1</sup> IBA, com a menor porcentagem de enraizamento (45,83%). Os resultados fornecem um indício de que a auxina não teve efeito positivo no enraizamento de miniestacas de espinheira-santa nesses meses. Em experimento com a aplicação de IBA em miniestacas de vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia*), Ferriani (2006) obteve a maior

porcentagem de enraizamento para a testemunha (27,50%). Frampton *et al.* (1999) observaram maior porcentagem de enraizamento (75,00%) em estacas lenhosas de *Pinus taeda* não tratadas com auxinas, sendo observada a redução desta porcentagem para 64,00% em estacas tratadas com concentrações mais baixas de IBA ( $924 \text{ mgL}^{-1}$ ) e para 55,00% naquelas tratadas com as concentrações mais elevadas de IBA ( $1751 \text{ mgL}^{-1}$ ).

No presente trabalho verificou-se também que o uso de solução alcoólica na concentração 25% para a aplicação de IBA na base das miniestacas não apresentou efeito tóxico para a formação de raízes em espinheira-santa. Nos meses de novembro/2006 e setembro/2007, o referido tratamento não diferiu significativamente dos demais. Nos meses de março e junho/2007, verificou-se diferença significativa entre os tratamentos, sendo o mês de março/2007 o que apresentou porcentagens de enraizamento significativamente inferiores aos demais tratamentos. Estes resultados estão em conformidade com os de Koch *et al.* (2001) que testaram a influência de soluções etanólicas de diferentes concentrações (10, 30, 50 e 70%) no enraizamento de estacas semilenhosas de maracujá amarelo nativo (*Passiflora actinia*) e verificaram a ausência de toxicidade para a formação de raízes nestas concentrações para a referida espécie. De acordo com Bhattacharya, Bhattacharya e Bhatnagar (1985) o etanol e outros álcoois podem ser usados como fonte de carbono e também para a dissolução de auxinas endógenas presentes na base das estacas.

De modo geral, os resultados de enraizamento de espinheira-santa demonstraram que em miniestacas que não receberam tratamento auxínico ou que foram tratadas com as menores concentrações de IBA (250 e  $500 \text{ mgL}^{-1}$ ) a porcentagem de enraizamento foi mais elevada. Estes resultados concordam em parte com aqueles obtidos por Alcântara (2005), a qual verificou que as miniestacas de *Pinus taeda* não tratadas com auxina (IBA) e tratadas com  $250 \text{ mgL}^{-1}$  IBA foram mais efetivas no enraizamento.

Com base nos resultados deste trabalho constatou-se que a aplicação de IBA em miniestacas coletadas nos meses de novembro/2006 e junho/2007 promoveu aumento na porcentagem de enraizamento em aproximadamente 10,00%. Embora, de acordo com Hartmann *et al.* (2002) a utilização de reguladores vegetais possa ser um incremento à capacidade de formação de raízes adventícias, contribuindo desse modo para o aumento da porcentagem de enraizamento e melhoria da uniformidade

e da qualidade do sistema radicial formado, estes efeitos do tratamento auxínico não foram confirmados no processo de enraizamento de miniestacas de espinheira-santa. Segundo Fachinello, Hoffmann e Nachtigal (2005) é necessário um balanço adequado entre os hormônios vegetais, principalmente entre auxinas, citocininas e giberelinas. A ausência de resposta de desenvolvimento radicial de estacas de espinheira-santa frente ao regulador vegetal IBA possivelmente esteja ligada à alta concentração de auxina endógena existente nas brotações no momento de coleta.

No presente trabalho verificou-se que a juvenildade das miniestacas de espinheira-santa reúne condições favoráveis à indução radicial e que a produção de mudas da espécie por meio da técnica de miniestaquia a partir de material de origem seminal é viável, podendo vir a ser uma alternativa para os produtores e para o estabelecimento de novas áreas de plantio. Estes resultados concordam com os verificados em experimento realizado com miniestacas de cedro-rosa, no qual foram obtidas porcentagens de enraizamento de 100,00 e 98,80% com miniestacas caulinares e caulinares apicais, respectivamente, confirmando a viabilidade da técnica para a produção de mudas (XAVIER; SANTOS; OLIVEIRA, 2003).

O período de tempo necessário para a obtenção de minicepas de espinheira-santa foi relativamente longo (10 meses), desde a coleta dos frutos até a conversão das mudas a minicepas, enquanto que o período de enraizamento das miniestacas durou três meses, totalizando 13 meses. De acordo com Wendling, Ferrari e Dutra (2005) o sistema de obtenção das minicepas é aparentemente mais longo que o enraizamento de estacas provenientes de matrizes adultas. No entanto, dependendo das características da espécie e de sua utilização, a miniestaquia pode vir a ser uma das opções mais baratas, pelo menor período de tempo de produção, qualidade das mudas e custos viáveis para o consumidor.

No caso da espinheira-santa, mesmo considerando o período de formação do minijardim clonal, a produção de mudas por miniestaquia a partir de propágulos de origem seminal torna técnica e economicamente viável a propagação vegetativa da espécie, uma vez que estacas de material adulto necessitam de longos períodos de permanência em casa-de-vegetação (cerca de 6 a 12 meses) com sistema de irrigação, para obtenção de aproximadamente 60,00% de enraizamento, fato este que eleva os custos da produção de mudas.

Além de todos os aspectos positivos citados anteriormente para a propagação de espinheira-santa por meio da técnica de miniestaquia, vale ressaltar que o

presente trabalho reúne informações básicas para o desenvolvimento de propágulos selecionados de plantas matrizes que possuam teores de metabólitos secundários de interesse na área farmacológica.

### 3.3.2.2 Número médio de raízes por miniestaca

Os resultados da análise estatística revelaram que houve interação significativa entre os meses do ano e concentrações de IBA, demonstrando a dependência dos fatores testados (Anexo 16). Os resultados indicaram grande variação no número de raízes formadas por miniestaca, de acordo com o mês de coleta das miniestacas e com a concentração de IBA aplicada (Figuras 9A, 9C e 9D).

TABELA 15 - Número médio de raízes formadas por miniestaca de *M. ilicifolia* sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e em quatro meses do ano, avaliadas aos 90 dias após a instalação do experimento. UFPR, Curitiba – PR, 2006 e 2007.

| Meses do ano                   | NÚMERO MÉDIO DE RAÍZES              |                  |          |          |          |  |  |  |  | Médias               |
|--------------------------------|-------------------------------------|------------------|----------|----------|----------|--|--|--|--|----------------------|
|                                | Concentrações IBA mgL <sup>-1</sup> |                  |          |          |          |  |  |  |  |                      |
|                                | Água                                | Sol. alc.<br>25% | 250      | 500      | 1000     |  |  |  |  |                      |
| Novembro/2006                  | 4,70 Bb                             | 5,64 Bab         | 4,56 Bb  | 6,34 Ba  | 5,29 Cab |  |  |  |  | 5,31                 |
| Março/2007                     | 5,00 Bab                            | 5,12 Bab         | 5,34 Ba  | 3,83 Cb  | 5,65 BCa |  |  |  |  | 4,99                 |
| Junho/2007                     | 5,29 Bb                             | 4,89 Bb          | 5,32 Bab | 5,66 Bab | 5,71 Ba  |  |  |  |  | 5,58                 |
| Setembro/2007                  | 8,04 Aa                             | 8,87 Aa          | 8,92 Aa  | 8,73 Aa  | 8,97 Aa  |  |  |  |  | 8,71                 |
| Médias                         | 5,76                                | 6,13             | 6,03     | 6,14     | 6,66     |  |  |  |  |                      |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                                     |                  |          |          |          |  |  |  |  | 14,111 <sup>ns</sup> |
| CV (%)                         |                                     |                  |          |          |          |  |  |  |  | 11,35                |

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna, para estações do ano, e da mesma letra minúscula na linha, para concentrações, não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade.

As médias significativamente superiores foram obtidas para as miniestacas coletadas no mês de setembro/2007, tendo o número de raízes variado entre 8,04 (testemunha) a 8,97 (1000 mgL<sup>-1</sup>), não sendo verificada diferença estatística significativa entre os tratamentos com IBA (Tabela 15). Resultados semelhantes foram obtidos por Ferriani (2006) que verificou maior número médio de raízes formadas por miniestaca de vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia*) para a testemunha (10,80), no mês de agosto, não havendo diferença significativa entre as concentrações de IBA testadas. Ferreira (2008) também verificou a formação de 6,06 raízes por miniestaca de leiteiro (*Sapium glandulatum*) na testemunha.

Em experimento realizado com estacas de lichieira (*Littchi sinensis* cultivar Bengal) também não foi observada diferença significativa entre as concentrações de IBA testadas para o número de raízes, sendo de 4,66 a média obtida para a testemunha (BASTOS *et al.*, 2006). Entretanto, em estacas herbáceas de espinheira-santa o número de raízes formadas por estaca na primavera foi de 6,55 para a testemunha, sendo esta média duplicada com a aplicação de auxina (12,35) havendo diferença significativa entre os tratamentos (SILVA, 1999).

Entre os demais meses de coleta das miniestacas foi observada diferença significativa no número médio de raízes para o mês de junho/2007 (5,71) quando comparado a novembro/2006 (5,29), na concentração de 1000 mgL<sup>-1</sup> IBA, enquanto que em março/2007 o valor significativamente inferior para essa variável foi verificado para a concentração de 500 mgL<sup>-1</sup> IBA (Tabela 15).

No mês de junho/2007 o tratamento 1000 mgL<sup>-1</sup> IBA (5,71) diferiu significativamente da testemunha (5,29) e da solução alcoólica 25% (4,89), demonstrando o efeito da auxina na formação de maior número de raízes. Efeito mais acentuado da auxina foi verificado em estacas herbáceas de espinheira-santa coletadas no inverno, nas quais Silva (1999) observou a formação de 2,75 raízes por estaca para a testemunha, enquanto que a aplicação de auxina promoveu a formação de 10,75 raízes por estaca.

No mês de março/2007 os tratamentos 250 (5,34) e 1000 mgL<sup>-1</sup> IBA (5,66) diferiram significativamente do tratamento 500 mgL<sup>-1</sup> IBA (3,83), sendo verificada a menor média geral para o número de raízes. No mês de novembro/2006 foi detectada diferença significativa entre o tratamento 500 mgL<sup>-1</sup> IBA (6,34) e a testemunha (4,70) e o tratamento 250 mgL<sup>-1</sup> IBA (4,56). As menores médias para o número de raízes em estacas herbáceas de espinheira-santa foram verificadas no verão tanto para a testemunha (2,62) quanto para os tratamentos auxínicos, chegando a 4,80 (SILVA, 1999).

O efeito estimulador de IBA na formação de raízes em miniestacas de espinheira-santa foi visível nos meses de novembro/2006, março e junho/2007. Em novembro/2006 a concentração intermediária de auxina (500 mgL<sup>-1</sup> IBA) demonstrou maior efeito estimulador na formação de raízes. Já em março/2007 a menor e a maior concentrações de IBA (250 e 1000 mgL<sup>-1</sup>) apresentaram efeito significativo na formação de maior número de raízes, enquanto que em junho/2007, a aplicação da concentração mais elevada de auxina (1000 mgL<sup>-1</sup> IBA) promoveu a formação de

maior número de raízes. Os resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com as afirmações de Zuffellato-Ribas e Rodrigues (2001) e Hartmann *et al.* (2002) onde a utilização de auxinas é recomendada para estimular o enraizamento adventício de estacas e aumentar a porcentagem de enraizamento em menor espaço de tempo, induzindo a formação de raízes mais vigorosas e em maior número, bem como promovendo uniformidade e melhor qualidade do sistema radicial formado.

De modo geral verificou-se que a aplicação de ácido indol butírico apresentou efeito estimulador de cerca de 25% no número de raízes em novembro/2006 (500 mgL<sup>-1</sup> IBA) e de 15% em junho/2007 (1000 mgL<sup>-1</sup> IBA). Porém, diante de todos os resultados verificados para essa variável nos outros meses e para a testemunha em todos os meses testados verifica-se que não há necessidade de utilização de auxina para a formação de raízes em miniestacas de espinheira-santa oriundas de propágulos juvenis, sendo a juvenilidade o fator determinante para o enraizamento. Além disso, a utilização desse regulador aumenta o custo da produção de mudas, reduzindo a viabilidade econômica da técnica.

Deve-se ressaltar que a formação de maior número de raízes em miniestacas de espinheira-santa foi constatada no mês de setembro/2007 (8,71), não havendo diferença significativa entre os tratamentos. Desse modo, pode-se observar que o sistema radicial das miniestacas coletadas neste mês apresenta maior qualidade e uniformidade das raízes. De acordo com Reis *et al.* (2000) mudas com sistema radicial bem formado fixam-se melhor ao solo quando transplantadas, possibilitando um desenvolvimento rápido e vigoroso, além de proporcionar aumento nas chances de sobrevivência das mesmas no campo. Contudo, a elevada porcentagem de enraizamento é essencial para a produção comercial de mudas, sendo assim para a propagação vegetativa de espinheira-santa recomenda-se a coleta de miniestacas no mês de junho. Entretanto, na prática a miniestaquia é realizada em seqüência e, desse modo, vale salientar a importância da realização de experimentos nos outros meses do ano para o monitoramento do processo de enraizamento e estabelecimento da técnica.

### 3.3.2.3 Comprimento médio de raízes por miniestaca

A análise estatística revelou que não houve interação significativa entre os fatores analisados (meses do ano e concentrações de IBA), indicando que os mesmos são independentes (Anexo 16). Para esta variável os meses de setembro/2007

(2,30 cm) e novembro/2006 (2,03 cm) apresentaram as maiores médias, sendo o mês de setembro significativamente superior aos demais meses de coleta de miniestacas (Figuras 9B e 9D). Ferreira (2008) obteve comprimento médio de raízes de 4,59 cm com a aplicação de IBA em miniestacas de leiteiro (*Sapium glandulatum*) no inverno.

Nos meses de março e junho/2007 verificou-se as menores médias para o comprimento de raízes, não havendo diferença significativa entre essas duas épocas de coleta de estacas. Não foi constatada diferença significativa entre as concentrações de IBA testadas (Tabela 16).

TABELA 16 - Comprimento médio de raízes formadas por miniestacas *M. ilicifolia* sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e em quatro meses do ano, avaliadas aos 90 dias após a instalação do experimento. UFPR, Curitiba – PR, 2006 e 2007.

| Meses do ano                   | COMPRIMENTO MÉDIO DE RAÍZES*        |                  |        |        |        | Médias               |   |
|--------------------------------|-------------------------------------|------------------|--------|--------|--------|----------------------|---|
|                                | Concentrações IBA mgL <sup>-1</sup> |                  |        |        |        |                      |   |
|                                | Água                                | Sol. alc.<br>25% | 250    | 500    | 1000   |                      |   |
| Novembro/2006                  | 2,01                                | 2,03             | 2,02   | 2,06   | 2,01   | 2,03                 | B |
| Março/2007                     | 1,89                                | 1,87             | 1,77   | 1,69   | 1,92   | 1,83                 | C |
| Junho/2007                     | 1,79                                | 1,80             | 1,86   | 1,81   | 1,79   | 1,81                 | C |
| Setembro/2007                  | 2,37                                | 2,32             | 2,32   | 2,30   | 2,21   | 2,30                 | A |
| Médias                         | 2,01 a                              | 2,00 a           | 1,99 a | 1,96 a | 1,98 a |                      |   |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                                     |                  |        |        |        | 22,803 <sup>ns</sup> |   |
| CV (%)                         |                                     |                  |        |        |        | 5,33                 |   |

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna, para estações do ano, e da mesma letra minúscula na linha, para concentrações, não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade.

\* dados transformados por raiz  $x+1$

A ausência de diferenças significativas observada entre os tratamentos auxínicos no enraizamento de espinheira-santa também foi verificada em trabalho realizado com miniestacas de vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia*), no qual Ferriani (2006) obteve resultados de comprimento médio de raízes de 5,3 cm no inverno, não havendo diferença significativa entre os tratamentos testados.

Devido aos resultados gerais de enraizamento verificados em miniestacas de espinheira-santa pôde-se observar que o material obtido de propágulos juvenis apresenta concentração endógena suficiente de auxina para estimular a indução e o desenvolvimento de raízes. Entretanto, as raízes formadas nas miniestacas apresentaram-se pequenas, o que pode ter ocorrido devido ao curto período de permanência no leito de enraizamento. Uma das causas para o aumento no comprimento de raízes não ter ocorrido pode ter sido a falta de nutrientes no substrato, para proporcionar o crescimento radicial após a indução (WENDLING; GATTO, 2002).

No presente trabalho, a aplicação de auxina não se mostrou efetiva no crescimento das raízes, sendo esta variável influenciada diretamente pelas condições ambientais do mês de coleta das brotações, ou seja, nos meses de temperaturas mais elevadas verificou-se maior crescimento das raízes (Anexos 20 e 21). A auxina sintética inibe ou estimula o crescimento e diferenciação dos tecidos, dependendo da concentração e do tempo de exposição, existindo um nível ótimo para estas respostas fisiológicas, as quais são diretamente dependentes dos níveis endógenos de auxinas (ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001; BOTELHO *et al.*, 2005). Os resultados observados em miniestacas de espinheira-santa são contrários àqueles obtidos por Hartmann *et al.* (2002), os quais afirmaram que o uso de auxinas sintéticas estimula e uniformiza o enraizamento em diversas espécies, aumentando a porcentagem de estacas enraizadas em menor espaço de tempo e promovendo a formação de raízes numerosas e de maior vigor.

#### 3.3.2.4 Porcentagem de miniestacas vivas

Verificou-se interação estatisticamente significativa entre os fatores testados para esta variável, indicando que os mesmos não são independentes (Anexo 17). Observou-se grande variação nos resultados, entre os meses de coleta de miniestacas e tratamentos testados, entretanto, o mês de março/2007 apresentou a maior porcentagem média de sobrevivência de miniestacas (Tabela 17). Neste mês, o tratamento  $500 \text{ mgL}^{-1}$  IBA (22,92%) diferiu significativamente dos demais tratamentos, enquanto que no mês de setembro/2007, o tratamento  $250 \text{ mgL}^{-1}$  IBA

(18,75%) foi significativamente superior aos demais. Já no mês de novembro/2006, a testemunha água apresentou maior taxa de sobrevivência (17,71%) e em junho/2007 os tratamentos 500 (11,46%) e 1000 mgL<sup>-1</sup> IBA (10,42%) diferiram significativamente do tratamento solução alcoólica a 25% (6,25%).

TABELA 17 - Porcentagem de miniestacas de *M. ilicifolia* vivas sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e em quatro meses do ano, avaliadas aos 90 dias após a instalação do experimento. UFPR, Curitiba – PR, 2006 e 2007.

| Meses do ano                   | MINIESTACAS VIVAS (%)               |                  |           |           |          | Médias |
|--------------------------------|-------------------------------------|------------------|-----------|-----------|----------|--------|
|                                | Concentrações IBA mgL <sup>-1</sup> |                  |           |           |          |        |
|                                | Água                                | Sol. alc.<br>25% | 250       | 500       | 1000     |        |
| Novembro/2006                  | 17,71 Aa                            | 12,50 Bb         | 10,41 Cbc | 11,45 Bbc | 8,33 Bc  | 12,08  |
| Março/2007                     | 10,42B Cc                           | 15,63 Ab         | 14,58 Bb  | 22,92 Aa  | 10,42 Bc | 14,79  |
| Junho/2007                     | 9,38 Cab                            | 6,25 Cb          | 9,38 Cab  | 11,46 Ba  | 10,42 Ba | 9,38   |
| Setembro/2007                  | 12,50 Bb                            | 12,50 Bb         | 18,75 Aa  | 6,25 Cc   | 14,59 Ab | 12,92  |
| Médias                         | 12,50                               | 11,72            | 13,28     | 13,02     | 10,94    |        |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) | 12,771 <sup>ns</sup>                |                  |           |           |          |        |
| CV (%)                         | 13,39                               |                  |           |           |          |        |

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna, para estações do ano, e da mesma letra minúscula na linha, para concentrações, não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade.

Os resultados obtidos para a sobrevivência de miniestacas de espinheira-santa foram bastante variáveis. A variação nos percentuais de sobrevivência também foi observada em miniestacas de vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia*), tanto para a testemunha como para os demais tratamentos com auxinas, cujas porcentagens variaram de 10,00 a 27,50% (FERRIANI, 2006).

As miniestacas de espinheira-santa permaneceram em casa-de-vegetação durante 90 dias e a presença de grande quantidade de miniestacas vivas não enraizadas pode indicar que houve um atraso no enraizamento das mesmas, devido ao período de tempo ter sido insuficiente para a mobilização de reservas armazenadas para a indução de raízes. Desse modo, a permanência por mais tempo no leito de enraizamento poderia resultar em maior taxa de enraizamento, como foi constatado para espécies de *Calliandra* (LIMA *et al.*, 2006).

### 3.3.2.5 Porcentagem de miniestacas com calos

A análise dos dados revelou que as variâncias médias não são homogêneas (Anexo 17), por esta razão somente os resultados das médias obtidas são apresentados na Tabela 18. Os resultados demonstraram grande variação na porcentagem de estacas vivas com calos nos meses de coleta das miniestacas (Figura 9C), tendo os meses de março/2007 (9,79%) e novembro/2006 (9,17%) apresentado médias numericamente superiores aos meses de junho/2007 e setembro/2007, enquanto que neste último verificou-se a menor média (3,33%).

TABELA 18 - Porcentagem de média de miniestacas de *M. ilicifolia* com calos sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e em quatro meses do ano, avaliadas aos 90 dias após a instalação do experimento. UFPR, Curitiba – PR, 2006 e 2007.

| Meses do ano                   | MINIESTACAS COM CALOS (%)           |                  |       |       |       | Médias |
|--------------------------------|-------------------------------------|------------------|-------|-------|-------|--------|
|                                | Concentrações IBA mgL <sup>-1</sup> |                  |       |       |       |        |
|                                | Água                                | Sol. alc.<br>25% | 250   | 500   | 1000  |        |
| Novembro/2006                  | 9,38                                | 12,50            | 11,46 | 2,09  | 10,42 | 9,17   |
| Março/2007                     | 9,38                                | 8,33             | 10,42 | 10,42 | 10,42 | 9,79   |
| Junho/2007                     | 8,33                                | 6,25             | 10,42 | 5,21  | 8,33  | 7,71   |
| Setembro/2007                  | 4,17                                | 0,00             | 0,00  | 4,71  | 7,79  | 3,33   |
| Médias                         | 7,81                                | 6,77             | 8,07  | 5,60  | 9,24  |        |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                                     |                  |       |       |       | 37,133 |
| CV (%)                         |                                     |                  |       |       |       | 59,17  |

A formação de calos em miniestacas de espinheira-santa foi bastante variável entre os meses do ano e os tratamentos com IBA. Os calos de espinheira-santa apresentaram coloração variada, amarelada, bege e até laranja-avermelhada, sendo a última predominante, concordando com os relatos de Silva (1999) para estacas herbáceas de espinheira-santa.

Quando foi verificada a presença de calos nas miniestacas, estes formaram-se na base do corte e também na região ao redor do caule, localizada logo acima do corte. Os calos não estavam presentes em todas as miniestacas de espinheira-santa portanto, a formação dos mesmos não pode ser considerada um pré-requisito para a formação de raízes. Ferriani (2006) também constatou que a formação de calos não constituiu pré-requisito para a formação de raízes em miniestacas de vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia*), bem como Paes (2002) observou em estacas de kiwizeiro (*Actinidia deliciosa*), cultivares “Bruno”, “Abbott” e “Monty”. Em espécies de difícil enraizamento, a formação de raízes pode ocorrer sobre o calo, embora a

formação do mesmo não seja um indício da formação de raízes adventícias (HAMANN 1998; HARTMANN *et al.*, 2002; FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005).

### 3.3.2.6 Porcentagem de miniestacas mortas

Por meio da análise estatística verificou-se que a interação entre os fatores meses do ano e concentrações de IBA foi estatisticamente significativa, demonstrando que os mesmos não são independentes (Anexo 17). Os resultados obtidos para esta variável demonstraram que a mortalidade foi bastante variável nos diferentes meses de coleta das miniestacas e também nas concentrações de auxina (Tabela 19).

TABELA 19 - Porcentagem de miniestacas de *M. ilicifolia* mortas sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico e em quatro meses do ano, avaliadas aos 90 dias após a instalação do experimento. UFPR, Curitiba – PR, 2006 e 2007.

| Meses do ano                   | MINIESTACAS MORTAS (%)              |                  |          |          |           |  |  |  |  |  | Médias               |
|--------------------------------|-------------------------------------|------------------|----------|----------|-----------|--|--|--|--|--|----------------------|
|                                | Concentrações IBA mgL <sup>-1</sup> |                  |          |          |           |  |  |  |  |  |                      |
|                                | Água                                | Sol. alc.<br>25% | 250      | 500      | 1000      |  |  |  |  |  |                      |
| Novembro/2006                  | 10,42 Cb                            | 10,42 Cb         | 11,46 Bb | 15,63 Ca | 13,54 Bab |  |  |  |  |  | 12,29                |
| Março/2007                     | 26,04 Ac                            | 39,58 Aa         | 22,92 Ac | 31,25 Ab | 33,33 Ab  |  |  |  |  |  | 30,63                |
| Junho/2007                     | 8,33 Ca                             | 6,25 Dab         | 1,04 Cc  | 4,17 Dbc | 4,17 Cbc  |  |  |  |  |  | 4,79                 |
| Setembro/2007                  | 17,70 Bb                            | 19,79 Bb         | 11,46 Bc | 18,75 Bb | 32,29 Aa  |  |  |  |  |  | 20,00                |
| Médias                         | 15,62                               | 19,01            | 11,72    | 17,45    | 20,83     |  |  |  |  |  |                      |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                                     |                  |          |          |           |  |  |  |  |  | 27,418 <sup>ns</sup> |
| CV (%)                         |                                     |                  |          |          |           |  |  |  |  |  | 9,42                 |

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna, para estações do ano, e da mesma letra minúscula na linha, para concentrações, não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade.

A maior média geral de mortalidade foi verificada nos meses de março/2007 (30,63%) e setembro/2007 (20,00%). Em março/2007 foram verificados os mais altos percentuais de miniestacas mortas, em todos os tratamentos (de 22,92 a 39,58%), havendo diferença significativa entre o tratamento solução alcoólica 25% (39,58%) e os demais tratamentos. A mortalidade das estacas é variável de acordo com as condições intrínsecas das mesmas e com as condições ambientais (HARTMANN *et al.*, 2002). As altas taxas de mortalidade podem estar relacionadas ao estágio de crescimento, balanço hormonal e grau de lignificação da miniestacas e, de acordo

com Hoffmann *et al.* (1994) a alta mortalidade decorre do baixo grau de lignificação dos tecidos da estaca, aliado à elevada temperatura da época do ano em que as brotações foram coletadas.

As baixas porcentagens de enraizamento obtidas em miniestacas de espinheira-santa no mês de março/2007 são decorrentes da alta mortalidade constatada, como conseqüência da elevada temperatura da época de instalação do experimento (Anexos 20 e 21), pois as plantas matrizes estão sujeitas a temperaturas mais altas e, portanto, apresentam maior susceptibilidade ao estresse hídrico (ALCÂNTARA, 2005). Nicoloso, Fortunato e Fogaça (1999) informaram que estacas com baixo grau de lignificação possuem limitada quantidade de reserva de nutrientes orgânicos e inorgânicos em seus tecidos, sendo esta uma das possíveis causas da baixa porcentagem de miniestacas vivas.

Dentre os tratamentos com aplicação de auxina, o mês de setembro/2007 apresentou diferença significativa para a maior porcentagem de estacas mortas para o tratamento  $1000 \text{ mgL}^{-1}$  IBA (32,29%), enquanto que no mês de novembro/2006, o tratamento  $500 \text{ mgL}^{-1}$  IBA (15,63%) diferiu significativamente dos demais. De acordo com Nachtigal *et al.* (1994) a mortalidade de estacas pode ser decorrente do efeito fitotóxico do regulador vegetal. Entretanto, para miniestacas coletadas no mês de março/2007 foi constatado o percentual de miniestacas mortas mais elevado de todos os meses testados (39,58%). Sendo assim, a morte das miniestacas pode ter sido ocasionada pela quantidade limitada de reservas de nutrientes orgânicos e inorgânicos em seus tecidos, sendo esta uma das causas do baixo percentual de sobrevivência. (NICOLOSO; FORTUNATO; FOGAÇA, 1999).

Dentre todos os outros, o mês de junho/2007 destacou-se pela menor média geral de mortalidade de miniestacas (4,79%), sendo a testemunha (8,33%) e a solução alcoólica (6,25%) significativamente superior aos demais tratamentos. Embora a mortalidade de miniestacas tenha sido verificada, os percentuais obtidos para a espécie ainda podem ser considerados baixos. Resultados diferentes foram obtidos por Silva (1999) que constatou mortalidade mais elevada de estacas herbáceas da espécie no outono (86,46%) e na primavera (80,21%). A alta mortalidade verificada em estacas herbáceas de espinheira-santa possivelmente foi decorrente dos fatores intrínsecos das mesmas, os quais interferiram diretamente na sobrevivência durante a realização do experimento.

### 3.4 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente experimento, foi possível concluir que:

Em jardins miniclonais de origem seminal a produtividade média de brotações/minicepa/coleta foi maior entre os meses de janeiro a abril.

As miniestacas apresentam heterogeneidade de resposta ao enraizamento nos diferentes meses do ano.

A aplicação de ácido indol butírico apresenta pouca influência no enraizamento adventício de miniestacas, não sendo necessária para a formação de raízes em material vegetativo proveniente de propágulos juvenis coletados em todos os meses testados.

A juvenilidade é fator determinante no enraizamento de espinheira-santa.

Devido à maior porcentagem de enraizamento, o mês de junho é o mais favorável para a coleta de miniestacas de espinheira-santa.

A propagação vegetativa de espinheira-santa por meio de miniestaquia é técnica e economicamente viável.

## REFERÊNCIAS

- ALCÂNTARA, G. B. de. **Miniestaquia de *Pinus taeda* L.** 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, Botânica) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.
- BASTOS, D. C.; PIO, R.; SCARPARE FILHO, J. A.; ALMEIDA, L. F. P. de; ENTELMANN, F. A.; ALVES, A. S. R. Tipo de estaca e concentração de ácido indolbutírico na propagação de lichieira. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n.1, p. 97-102, 2006.
- BHATTACHARYA, S.; BHATTACHARYA, N. C.; BHATNAGAR, V. B. Effect of ethanol, methanol and acetone on rooting etiolated cuttings of *Vigna radiata* in presence of sucrose and auxin. **Annals of Botany**, Oxford, v. 55, p. 132-149, 1985.
- BOTELHO, R. V.; MAIA, A. J.; PIRES, J. P.; TERRA, M. M.; SCHUCK, E. Estaquia do porta-enxerto de videira '43-43' (*V. vinifera* x *V. rotundifolia*) resistente à *Eurhizococchus brasiliensis*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 3, p. 480-483, 2005.
- BRONDANI, G. E.; WENDLING, I.; SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; ROVEDA, L. F.; ORRUTÉA, A. G. Ambiente de enraizamento e substratos na miniestaquia de erva-mate. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 8, n. 3, p. 257-267, 2007.
- CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R.; SOUSA, V. A. **Estaquia de corticeira-do-banhado (*Erythrina cristagalli* L.)**. Colombo: Embrapa, 2001. p. 1-6. (Comunicado Técnico Embrapa Florestas, n. 64)
- CARVALHO, R. I. N. de; CARDON, L. M.; JAREMTCHUCK, C. C.; KANAWATE, E. N.; SILVA, J. E. C. da. **Carqueja e espinheira-santa na região metropolitana de Curitiba**: da produção ao comércio. 1. ed. Curitiba: Life, 2003. 44 p.
- CUNHA, A. C. M. C. M. da; WENDLING, I.; SOUZA JUNIOR, L. **Influência da presença ou ausência de folhas no enraizamento de miniestacas de corticeira-do-mato (*Erythrina falcata* Benth) obtidas em sistema hidropônico**. Colombo: Embrapa, 2003. p. 1-5. (Comunicado Técnico Embrapa Florestas, n. 89).
- CUNHA, A. C. M. C. M. da; WENDLING, I.; SOUZA JUNIOR, L. Produtividade e sobrevivência de minicepas de *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cambage. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 15, n. 3, p. 307-310, 2005.

CUNHA, A. C. M. C. M. da. **Relações do estado nutricional de minicepas e condições meteorológicas com o número e o enraizamento de miniestacas em eucalipto**. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de classificação de solos**. Brasília: Embrapa produção de informação; Rio de Janeiro: Embrapa solos, 1999. 412 p.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 221 p.

FERREIRA, B. G. A. **Propagação de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax por estaquia, miniestaquia e sementes**. 135 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Produção Vegetal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

FERRIANI, A. P. **Estaquia de vassourão-branco (*Piptocarpa angustifolia* Dusén)**. 85 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Produção Vegetal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

FERRIANI, A. P.; BORTOLINI, M. F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S. Propagação vegetativa de azaléia arbórea (*Rhododendron thomsonii* Hook. F.) por estaquia. **Semina Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 35-42, 2006.

FRAMPTON, L. J.; GOLDFARB, B.; SURLLES, S. E.; LAMBETH, C. C. Nursery rooting and growth of loblolly pine cuttings: effects of rooting solution and full-sib family. **Southern Journal Applied Forestry**, Bethesda, v. 23, n. 2, p. 108-115, 1999.

HAMANN, A. Adventitious root formation in cuttings of loblolly pine (*Pinus taeda* L.): developmental sequence and effects of maturation. **Trees**, Heidelberg, v. 12, p. 175-180, 1998.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles e practices**. 7. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002. 880 p.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. de A.; GONÇALVES, A. N. **Propagação vegetativa de *Eucalyptus***: princípios básicos e sua evolução no Brasil. Piracicaba, IPEF, 2000. p. 1- 11. (Circular Técnica IPEF, n. 192).

HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; ROSSAL, P. A. L.; CASTRO, A. M.; FACHINELLO, J. C.; PAULETTO, E. A. Influência do substrato sobre o enraizamento de estacas semilenhosas de figueira e araçazeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 16, n. 1, p. 302-307, 1994.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ (IAPAR). **Cartas climáticas do estado do Paraná**. Londrina, 1994. 49 p. (Documento 18)

KOCH, R. C.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; POSSAMAI, J. C. Vegetative propagation of *Passiflora actinia* by semihardwood cuttings. **Semina Ciências Agrárias**, Londrina, v. 22, n. 2, p. 165-167, 2001.

KÖRBES, V. C. **Plantas medicinais**. Francisco Beltrão: Associação de Estudos, Orientação e Assistência Rural, 1995. 188 p.

LIMA, D. M. de; ALCÂNTARA, G. B. de; BORTOLINI, M. F.; FANTI, F. P.; BIASI, L. A.; QUOIRIN, M.; KOEHLER, H. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Substratos e concentrações de ácido naftaleno acético no enraizamento de estacas semilenhosas de *Calliandra selloi* e *Calliandra tweediei*. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 7, n. 1-2, p. 105-111, 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. de A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512 p.

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

NICOLOSO, F. T.; FORTUNATO, R. P.; FOGAÇA, M. A. F. Influência da posição da estaca no ramo sobre o enraizamento de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen em dois substratos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 2, p. 277-283, 1999.

PAES, E. da G. B. **Enraizamento de estacas de kiwizeiro com fitorreguladores nas quatro estações do ano**. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Produção Vegetal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

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

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

SANTOS, C. A. de M.; TORRES, K. R.; LEONART, R. **Plantas medicinais: herbarium flora et scientia**. 2. ed. Curitiba: Scientia et Labor, 1988. p. 50.

SANTOS, A. P. dos; XAVIER, A.; OLIVEIRA, M. L. de; REIS, G.G. dos. Efeito da estaquia, miniestaquia, microestaquia e micropropagação no desempenho silvicultural de *Eucalyptus grandis*. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, n. 68, p. 29-38, 2005.

SILVA, C. DE P. **Efeitos do ANA, ácido bórico, paclobutrazol e da época de coleta, no enraizamento de estacas caulinares de espinheira-santa (*Maytenus aquifolia* Mart.)**. 99 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas, Botânica) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1999.

TITON, M. B.; XAVIER, A.; OTONI, W. C.; REIS, G.G. Efeito do AIB no enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. **Revista Árvore**, Viçosa, v.27, n. 1, p. 1-7, 2003.

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

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

WENDLING, I.; GATTO, A. **Substratos, adubação e irrigação na produção de mudas**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2002. v. 2. 165 p.

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

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

WENDLING, I.; FERRARI, M. P.; DUTRA, L. F. Produção de mudas de corticeira-do-mato (*Erythrina falcata* Bentham) por miniestaquia a partir de propágulos juvenis. Colombo: Embrapa, 2005. p. 1-5. (Comunicado Técnico Embrapa Florestas, n. 130).

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

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

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

ZUFFELLATO-RIBAS; K. C.; RODRIGUES, J. D. **Estaquia**: uma abordagem dos principais aspectos fisiológicos. Curitiba, 2001. 39 p.

#### 4 CAPÍTULO III - ALPORQUIA DE ESPINHEIRA-SANTA COM DIFERENTES SUBSTRATOS E CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDO INDOL BUTÍRICO

##### RESUMO

*Maytenus ilicifolia* (espinheira-santa) é uma espécie empregada na medicina tradicional principalmente por suas propriedades antiulcerogênicas. Com o aumento na comercialização da matéria-prima vegetal, houve necessidade de disponibilizar material de qualidade e em quantidade suficiente para a população. A produção de mudas por meio de estaquia revelou que a espinheira-santa é de difícil enraizamento, podendo a técnica de alporquia ser uma opção viável para a produção de mudas da espécie. Desse modo, o presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da aplicação de ácido indol butírico (IBA) e do uso de diferentes substratos no enraizamento de alporques de espinheira-santa em duas épocas do ano (outono/2005 e verão/2006). Foram selecionados 40 indivíduos adultos com aproximadamente 6 anos de idade, de área cultivada da Estação Experimental do Canguiri, Pinhais, PR. Para a confecção dos alporques foi realizado o anelamento completo dos ramos semilenhosos e a aplicação de diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgkg<sup>-1</sup>), veiculado em lanolina. Para o experimento foram utilizados os substratos esfagno, fibra de casca de coco e vermiculita. Aos 365 dias após a instalação foram avaliadas as variáveis: porcentagem de alporques enraizados, número e comprimento médio de raízes/alporque, porcentagem de alporques com calos, sobrevivência e mortalidade. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 9 tratamentos e 4 repetições de 10 alporques/parcela, em arranjo fatorial 3x3 (concentrações de IBA x substratos). Não houve enraizamento nos alporques realizados no outono/2005, enquanto que no verão/2006 a porcentagem de enraizamento foi baixa (1,11%). A porcentagem média de calos foi significativamente superior para o substrato fibra de casca de coco (49,17%) nos alporques realizados no outono/2005. Já para a alporquia realizada no verão/2006, a porcentagem de alporques com calos para a testemunha no substrato vermiculita (37,50%) diferiu significativamente dos demais. A aplicação de IBA não teve efeito na indução radicial e nem na formação de calos nos alporques. A propagação vegetativa de espinheira-santa por meio de alporquia não é viável em plantas com aproximadamente 6 anos de idade.

Palavras-chave: *Maytenus ilicifolia*. Esfagno. Fibra de casca de coco. Vermiculita. Espécie medicinal.

#### 4 CHAPTER III – AIR LAYERING OF *Maytenus ilicifolia* WITH DIFFERENT SUBSTRATES AND INDOLEBUTYRIC ACID CONCENTRATIONS

##### ABSTRACT

*Maytenus ilicifolia* is a plant species commonly employed in traditional medicine, mainly by their antiulcerogenic properties. With the increment in plant raw material commercialization, there was necessity to turn available better quality materials, and in enough quantity enough to supply the population. The seedlings production by cutting technique revealed that *M. ilicifolia* is a hard rooting species, being the air layering technique a feasible option for the seedling production of that specie. On this way, the present work aimed to evaluate the effects of indolebutyric acid application (IBA) and the use of different substrates on rooting of *M. ilicifolia* air layers, in two year seasons (Autumn/2005 and Summer/2006). It was selected 40 adult plants with about 6 years old, from a cultivated area at Estação Experimental Canguiri, Pinhais, PR. The air layered branches were accomplished by a complete ringing of the semihardwood branches and employing different IBA concentrations (0, 1500 and 3000 mg kg<sup>-1</sup>), using lanolin paste as carrier. For the experiment it was utilized sphagnum, coir dust and vermiculite as substrates. At 365 days after installation, it was evaluated the variables: percentage of rooted air layers, number and mean length of root/air layer, percentage of air layers with callus, survival and necrosis. The experiment was in complete randomized design, with 9 treatments and 4 repetition of 10 air layers/plot, distributed in a factorial design 3x3. There was no rooting in air layers realized on Autumn/2005, while in Summer/2006 the percentage of rooting was very low (1.11%). The mean callus percentage was significantly superior for coir dust substrate (49.17%), in air layers realized on Autumn/2005. For the air layering realized on Summer/2006, the percentage with callus in control, using vermiculite as substrate (37.50%), was significantly different from other treatments. The application of IBA didn't show any effect on root induction neither in callus formation in air layers. Vegetative propagation of *M. ilicifolia* by air layering is not feasible in plants with about 6 years old.

Key words: *Maytenus ilicifolia*. Sphagnum. Coir dust. Vermiculite. Medicinal species.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

Dentre as plantas medicinais nativas do Brasil e popularmente consagradas, encontra-se a *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek (Celastraceae), conhecida como espinheira-santa (PEREIRA, 1998). As folhas desta espécie são consumidas na forma de chá pela população no combate à úlcera gástrica, dispepsias e outros problemas gástricos (FRANÇA; PEREIRA, 1997). A maioria das plantas medicinais utilizadas pela população é nativa e se desenvolve naturalmente nas diferentes formações vegetacionais do país. O Paraná é um dos maiores produtores de plantas medicinais e também é um dos maiores coletores clandestinos de toneladas de folhas de espécies nativas, dentre elas, a espinheira-santa (CORRÊA JÚNIOR; MING; SCHEFFER, 1991). A coleta indiscriminada de folhas de espinheira-santa pode representar um risco para o consumidor de fitoterápicos, devido a troca de espécies ou a mistura com materiais adulterantes e indesejáveis (RADOMSKI, 1998), além de depredar o patrimônio genético vegetal e de levar a espécie à extinção (FLORES *et al.*, 1998).

A propagação comercial de mudas de espinheira-santa é realizada por meio de material de origem seminal e de acordo com Silva Júnior (2003), a propagação vegetativa pode ser realizada por micropropagação e alporquia, uma vez que com a técnica de estaquia os resultados de enraizamento obtidos foram insatisfatórios. Por meio de experimento realizado com estaquia caulinar de outra espécie de espinheira-santa (*Maytenus aquifolia*), Silva (1999) verificou que a técnica não se mostrou viável, podendo esta espécie ser considerada de difícil enraizamento.

A propagação vegetativa pelo método de alporquia apresenta vantagens em relação à estaquia, como o alto percentual de enraizamento e a independência de infra-estrutura (CASTRO; SILVEIRA, 2003). Dentre técnicas de propagação vegetativa, a alporquia é a mais simples, na qual a formação de raízes ocorre a partir de ramos previamente anelados, denominados alporques. Pode-se dizer que a técnica consiste num tipo de estaquia, na qual o calo inicial e a formação de raízes ocorrem no ramo, antes de ser destacado da planta mãe. Quando comparada à estaquia, a alporquia é um processo menos drástico e que requer menos cuidado com o ambiente em que se encontra (BORDIGNON; MEDINA FILHO, 2003).

A alporquia é um tipo especial de mergulhia, também chamada de mergulhia aérea, utilizada para produção de mudas de maior tamanho e em pequeno número, de determinadas espécies e com propósitos especiais (HARTMANN *et al.*, 2002). Esta técnica é muito empregada em espécies de difícil enraizamento, quando ocorre baixa porcentagem enraizamento, ou ainda, quando há dificuldade de levar o ramo até o solo para a realização de outros tipos de mergulhia, como a mergulhia simples, invertida ou contínua (LUCCHESI, 1993). A espinheira-santa é uma espécie de difícil enraizamento, entretanto, e para a mesma não foram encontrados resultados publicados de experimentos utilizando a técnica, sendo de Silva Júnior (2003) a informação publicada de que a propagação da espécie é possível por meio de alporquia.

A alporquia tem sido realizada em diversas espécies ornamentais como hibisco (*Hibiscus rosa-sinensis*), primavera (*Bougainvillea apectabilis*), camélia (*Camelia japonica*) (LUCCHESI, 1993), espiroleira (*Nerium olenader*) (MARÇALLO; ALMEIDA; ZUFFELLATO-RIBAS, 2001) e manacá (*Brunfelsia uniflora*) (ALTHAUS-OTTMANN; LEAL; ZUFFELLATO-RIBAS, 2006). Dentre as espécies frutíferas, diversos trabalhos têm sido realizados em lichieira, cajueiro (ALMEIDA *et al.*, 1991), umbuzeiro, gravioleira (LEDERMAN *et al.*, 1991), urucuzeiro (SILVA *et al.*, 1993), falsa-seringueira (HARTMANN *et al.*, 2002), videira (PACHECO; CASTRO; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 1998), jambeiro-rosa (MARTINS; ANTUNES, 2000), pessegueiro (CASTRO; SILVEIRA, 2003), cafeeiro (BORDIGNON; MEDINA FILHO, 2003), jabuticabeira (DANNER *et al.*, 2006) e marmeleiro-japonês (PIO *et al.*, 2007).

Os alporques geralmente são feitos na primavera ou no verão em caules com um período de crescimento anterior ou, em alguns casos, no final do verão em ramos semilenhosos. Os caules mais velhos, com mais de um ano de idade, podem ser usados em alguns casos, mas o enraizamento é menos satisfatório e torna-se mais difícil a produção de um número maior de plantas. A presença de folhas fotossinteticamente ativas nos ramos, acima da região do anelamento, possibilita o enraizamento mais rápido (HARTMANN *et al.*, 2002).

O substrato utilizado para o enraizamento é de extrema importância na propagação vegetativa, sendo sua escolha dependente da espécie, sistema de propagação, custo e disponibilidade. O meio de enraizamento ou substrato mais adequado deve ainda ser inerte, apresentar boa aeração e retenção de umidade, possibilitando o crescimento do sistema radicial (HARTMANN *et al.*, 2002), uma vez

que o mesmo influencia tanto na porcentagem de enraizamento como no tipo de raízes formadas (JANICK, 1966). Diversos trabalhos demonstraram que, com relação ao ambiente, a utilização ou não de reguladores vegetais, bem como diferentes tipos de substratos e/ou mistura dos mesmos, têm afetado consideravelmente a porcentagem de enraizamento dos alporques (SILVA *et al.*, 1993).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da aplicação de diferentes concentrações de ácido indol butírico (IBA) e do uso de diferentes substratos no enraizamento de alporques de espinheira-santa em duas épocas do ano. Paralelamente, análises anatômicas foram realizadas para estudar o processo de rizogênese dos alporques.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1 Alporquia

No presente experimento foram utilizadas plantas matrizes de espinheira-santa existentes em área cultivada no Setor de Plantas Medicinais da Estação Experimental do Canguiri, pertencente à Universidade Federal do Paraná. A Estação possui uma área de 440 ha e está localizada no município de Pinhais-PR, estando situada na região fisiográfica denominada Primeiro Planalto Paranaense, entre as coordenadas 25°23'30" latitude Sul e 49°07'30" longitude Oeste e a 930 m de altitude.

O solo é caracterizado como Cambissolo Háplico Tb Distrófico latossólico, com horizonte A proeminente e textura argilosa e o relevo é suavemente ondulado (EMBRAPA, 1999). O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é classificado como Cfb, mesotérmico úmido sem estação seca definida, com temperatura mínima média de 12,5°C e temperatura máxima média de 22,5°C, com verões frescos. Os meses de janeiro e fevereiro são os mais quentes e junho e julho os mais frios, com ocorrência freqüente de geadas severas (mais de cinco por ano). A precipitação média anual da região é de 1400 a 1500 mm, com chuvas bem distribuídas durante o ano. Os meses de abril e maio são os mais secos com média de 75 a 100 mm (IAPAR, 1994). A precipitação mensal e as temperaturas médias, média das mínimas e média das máximas registradas para o município de Pinhais, no período de realização dos experimentos de alporquia, são apresentadas nos Anexos 22 e 23.

A área cultivada é composta por 120 plantas de espinheira-santa e foi instalada em setembro de 1999, com espaçamento de 2,0 m na linha e 4,0 m na entrelinha. Os alporques foram confeccionados em indivíduos adultos, com aproximadamente 6 anos de idade, no outono (junho/2005) e no verão (janeiro/2006), ou seja, antes do florescimento e durante o período de frutificação, respectivamente.

As plantas matrizes utilizadas em junho/2005 sofreram poda de renovação e aplicação de calda sulfocálcica (Quimis<sup>®</sup>) nos ramos e no tronco no ano anterior

(julho/2004), enquanto que naquelas utilizadas em janeiro/2006, a poda e aplicação de calda sulfocálcica (Quimis<sup>®</sup>) foram realizadas em julho/2005. 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.

Das 40 plantas utilizadas, foram selecionados ramos semilenhosos da metade superior da copa, com 40 a 60 cm de comprimento e 1,5 a 2,5 cm de diâmetro (Figura 10A). A partir da extremidade de cada ramo foram medidos de 20 a 30 cm para seleção da região de início da desfolha (Figuras 10B e 10C). A confecção do anelamento completo com 1 cm de comprimento foi realizada no centro da região desfolhada, com canivete (Figuras 10D e 10E). Em seguida, foi realizada a aplicação de lanolina anidra contendo diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgkg<sup>-1</sup>) sobre a região anelada (Figura 10E). Para facilitar o manuseio e aplicação, a lanolina foi previamente aquecida e mantida em caixa térmica.

A região anelada de cada ramo foi envolta pelos substratos esfagno (Figura 11A), vermiculita de granulometria fina (Figura 11B) e fibra de casca de coco (Amafibra<sup>®</sup>) (Figuras 10F, 11B e 11C), previamente umedecidos. Em seguida, foi recoberta por plástico transparente liso (polietileno 24 cm x 36 cm x 0,08 mm), para facilitar a visualização das raízes, tendo as duas extremidades amarradas com barbante, para a sustentação do material e manutenção da umidade (Figuras 11C a 11F). A identificação de cada tratamento foi feita com fitas (65% polietileno e 35% polipropileno) de cores diversificadas (Figura 11D). Os substratos dos alporques foram umedecidos sempre que necessário, ou seja, quando foi verificada redução no teor de umidade dos mesmos, visual e manualmente, apalpando-se o alporque.



FIGURA 10 - Alporquia de espinheira-santa. A. Seleção do ramo para a confecção do alporque. B. Medida da extremidade do ramo até a área de desfolha. C. Desfolha da região para a realização do anelamento. D. Região desfolhada. E. Aplicação de lanolina anidra com diferentes concentrações de IBA sobre a região anelada. F. Colocação de substrato fibra de casca de coco. UFPR, Pinhais – PR, 2006.



FIGURA 11 - Alporquia de espinheira-santa. A. Substrato esfagno. B. Substrato vermiculita. C. Colocação do plástico envolvendo o substrato. D. Alporque finalizado. E. Planta de espinheira-santa contendo alporques. F. Alporques em plantas de espinheira-santa da área cultivada na Estação experimental do Canguiri. UFPR, Pinhais – PR, 2006.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 9 tratamentos e 4 repetições de 10 alporques/parcela, em arranjo fatorial 3 x 3 (3 concentrações de IBA x 3 tipos de substrato). Das combinações entre as concentrações de IBA e os tipos de substrato resultaram os seguintes tratamentos por planta de espinheira-santa: T1 (0 mgkg<sup>-1</sup> IBA + fibra de casca de coco); T2 (1500 mgkg<sup>-1</sup> IBA + fibra de casca de coco); T3 (3000 mgkg<sup>-1</sup> IBA + fibra de casca de coco); T4 (0 mgkg<sup>-1</sup> IBA + vermiculita); T5 (1500 mgkg<sup>-1</sup> IBA + vermiculita); T6 (3000 mgkg<sup>-1</sup> IBA + vermiculita); T7 (0 mgkg<sup>-1</sup> IBA + esfagno); T8 (1500 mgkg<sup>-1</sup> IBA + esfagno); T9 (3000 mgkg<sup>-1</sup> IBA + esfagno).

As observações visuais foram realizadas trimestralmente e como não foi verificado enraizamento aos 180 dias, realizou-se a avaliação aos 365 dias após a instalação do experimento. Os ramos foram removidos da planta matriz para a avaliação dos alporques. As variáveis avaliadas foram: porcentagem de alporques enraizados (alporques vivos que apresentaram pelo menos uma raiz, podendo ou não apresentar calos), número médio de raízes por alporque comprimento médio das três maiores raízes por alporque (cm), porcentagem de alporques com calos (alporques vivos que apresentaram a formação de calos, mas sem enraizamento), porcentagem de alporques vivos (alporques que não formaram calos nem raízes) e porcentagem de alporques mortos (alporques que apresentaram necrose em toda ou na maior parte de sua extensão).

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. Para a realização da análise estatística foi utilizado o programa MSTAT-C<sup>®</sup>, versão 2.10 (Russel D. Freed, MSTAT Director, Crop and Soil Science Department, Michigan State University, E.U.A).

#### 4.2.2 Análises anatômicas

Para a análise anatômica qualitativa foram coletadas amostras das regiões acima e abaixo do anelamento dos alporques com aproximadamente 1 cm de comprimento, no momento da avaliação do experimento instalado em janeiro/2006, ou seja, aos 365 dias após a instalação (janeiro/2007). As amostras foram fixadas

em F.A.A. 70 (etanol 70%, ácido acético e formaldeído, 90:5:5) (JOHANSEN, 1940) por cerca de 72 horas e posteriormente conservadas em etanol 70%. Os materiais destinados à preparação de lâminas permanentes foram incluídos em meta-acrilato-glicol (historresina-Leica<sup>®</sup>), segundo a técnica de Feder e 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; FEDER; McCULLY, 1965). As lâminas foram montadas com resina sintética (Permalte<sup>®</sup>). As fotomicrografias foram realizadas em microscópio Zeiss com câmera digital Sony Cyber-Shot P200<sup>®</sup> acoplada.

## 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.3.1 Alporquia

Nas avaliações realizadas aos 365 dias não foi verificado enraizamento dos alporques em nenhum dos tratamentos testados no experimento realizado no outono (junho/2005). No experimento instalado no verão (janeiro/2006) os resultados foram semelhantes, sendo verificado enraizamento de alguns alporques. Entretanto, a porcentagem de enraizamento foi de 1,11%, não sendo possível a análise desta variável. Os resultados obtidos no presente trabalho divergem daqueles verificados por Silva Júnior (2003), o qual afirmou que o enraizamento de alporques de espinheira-santa deveria ocorrer em 40 dias.

Desse modo, realizou-se a análise estatística das variáveis porcentagem de alporques com calos, vivos e mortos. Em ambas as épocas de instalação do experimento avaliou-se, portanto, a sobrevivência (porcentagem de alporques com calos e de alporques vivos) e a mortalidade, sendo os resultados apresentados dessa forma.

Por meio dos resultados do Teste de Bartlett verificou-se que as variáveis analisadas apresentaram as variâncias homogêneas, exceto para porcentagem de alporques vivos no outono (junho/2005). A transformação dos dados desta variável foi realizada, mas a homogeneidade não foi verificada do mesmo modo.

#### 4.3.1.1 Porcentagem de alporques com calos

A análise estatística revelou que não houve interação significativa entre os fatores analisados (concentrações de IBA e substratos) para a variável porcentagem de alporques com calos, instalado em junho/2005, indicando que os mesmos são independentes (Anexo 18). As médias do experimento de alporquia de espinheira-santa realizado no outono (junho/2005) são apresentadas na Tabela 20. Nesta época, verificou-se que a média geral da porcentagem de calos em alporques

realizados com o substrato fibra de casca de coco (49,17%) foi significativamente superior aos demais substratos, vermiculita (35,00%) e esfagno (13,33%) (Figuras 12A a 12D). Para as diferentes concentrações de IBA não foi observada diferença significativa entre os tratamentos, demonstrando que a aplicação de IBA não teve efeito na indução radicial e nem na formação de calos nos alporques.

TABELA 20 - Porcentagem de alporques de *M. ilicifolia* com calos sob efeito de diferentes substratos e concentrações de ácido indol butírico, avaliados 365 dias após a instalação (junho/2005). UFPR, Curitiba – PR, 2006.

| Substratos                        | Alporques com calos (%)              |         |         | Médias  |
|-----------------------------------|--------------------------------------|---------|---------|---------|
|                                   | Concentrações IBA mgkg <sup>-1</sup> |         |         |         |
|                                   | 0                                    | 1500    | 3000    |         |
| FCC                               | 45,00                                | 50,00   | 52,50   | 49,17 A |
| VERM                              | 37,50                                | 27,50   | 40,00   | 35,00 B |
| ESF                               | 12,50                                | 7,50    | 20,00   | 13,33 C |
| Médias                            | 31,67 a                              | 28,33 a | 37,50 a |         |
| Teste de Bartlett<br>( $\chi^2$ ) | 4,999 <sup>ns</sup>                  |         |         |         |
| CV (%)                            | 24,31                                |         |         |         |

FCC = fibra de casca de coco; VERM = vermiculita; ESF = esfagno. Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna, para substratos, e da mesma letra minúscula na linha, para concentrações, não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade.

Para a mesma variável, no experimento instalado em janeiro/2006, a análise estatística revelou que a interação entre os fatores épocas do ano e concentrações de IBA foi estatisticamente significativa, demonstrando a dependência dos fatores testados (Anexo 19). No experimento realizado no verão (janeiro/2006), constatou-se diferença significativa entre os substratos e as concentrações de IBA testadas para as porcentagens de alporques com calos (Tabela 21). Para a testemunha, o substrato vermiculita foi estatisticamente superior (37,50%) aos demais substratos, vermiculita (20,00%) e esfagno (12,50%). Para as concentrações de IBA foi observada diferença significativa entre os tratamentos, sendo a maior formação de calos (37,50%) verificada nos alporques não tratados com auxina (testemunha) quando comparado aos demais tratamentos.



FIGURA 12 - Alporquia de espinheira-santa. A. Avaliação aos 365 dias (janeiro/2007). B. Ramo entumescido pelo acúmulo de reservas na região superior ao anelamento e com a presença de calos (marrom-alaranjados). C. Alporque apresentando entumescimento e calos. D. Alporque com calos e raiz. UFPR, Pinhais – PR, 2007.

TABELA 21 - Porcentagem de alporques de *M. ilicifolia* com calos sob efeito de diferentes substratos e concentrações de ácido indol butírico, avaliados 365 dias após a instalação (janeiro/2006). UFPR, Curitiba – PR, 2007.

| Substratos                        | Alporques com calos (%)              |     |       |     |       |     | Médias |
|-----------------------------------|--------------------------------------|-----|-------|-----|-------|-----|--------|
|                                   | Concentrações IBA mgkg <sup>-1</sup> |     |       |     |       |     |        |
|                                   | 0                                    |     | 1500  |     | 3000  |     |        |
| FCC                               | 20,00                                | B a | 30,00 | A a | 20,00 | A a | 23,33  |
| VERM                              | 37,50                                | A a | 22,50 | A b | 20,00 | A b | 26,67  |
| ESF                               | 12,50                                | B a | 5,00  | B a | 15,00 | A a | 10,83  |
| Médias                            | 23,33                                |     | 19,17 |     | 18,33 |     |        |
| Teste de Bartlett<br>( $\chi^2$ ) | 6,238 <sup>ns</sup>                  |     |       |     |       |     |        |
| CV (%)                            | 37,09                                |     |       |     |       |     |        |

FCC = fibra de casca de coco; VERM = vermiculita; ESF = esfagno. Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna, para substratos, e da mesma letra minúscula na linha, para concentrações, não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade.

A maior porcentagem de alporques com calos verificada para o substrato fibra de casca de coco em junho/2005 e a maior porcentagem de alporques com calos obtida no substrato vermiculita em janeiro/2006 pode ser devido a características como bom espaço de aeração, elevada porosidade e alta capacidade de retenção de água de ambos os substratos (DOLE; WILKINS, 1999; KÄMPF, 2000; HARTMANN *et al.*, 2002).

Nas duas épocas de realização da alporquia observou-se a menor porcentagem de formação de calos no substrato esfagno, entretanto, este possui características físicas semelhantes aos outros dois substratos testados, como baixa densidade, bom espaço de aeração (LUCCHESI, 1993) e alta retenção hídrica (KÄMPF, 2000). Entretanto, observou-se nas avaliações realizadas, que o esfagno apresentava-se encharcado, desse modo, os resultados obtidos podem indicar à intolerância da espinheira-santa a substratos e ambientes encharcados, independente da época do ano. Essa intolerância ao excesso de água no substrato também foi observada por Lima *et al.* (2007) em estacas de jambolão (*Syzygium cumini*).

O excesso de água retido nesse substrato possivelmente reduziu a aeração no alporque, impedindo ou reduzindo a atividade celular no local, pois, de acordo com Hartmann *et al.* (2002), um substrato adequado para o enraizamento deve ser suficientemente poroso, a fim de permitir trocas gasosas eficientes, visto que a maior disponibilidade de oxigênio nos ramos favorece a atividade celular durante o processo de formação de calos e da emissão de raízes.

O tecido caloso em espinheira-santa é uma estrutura bastante compacta, de coloração marrom-alaranjada, contendo saliências, sendo este o aspecto característico do calo, conforme verificado por Silva (1999), em estacas de outra espécie de espinheira-santa (*M. aquifolia*). A formação foi observada na grande maioria dos alporques que permaneceram vivos, na região de retirada da casca, tanto nas margens superiores quanto nas inferiores do anelamento, sendo estes resultados semelhantes àqueles obtidos em alporques de videira muscadínia, por Pacheco, Castro e Appezzato-da-Glória (1998).

A formação de calos não foi um indício de posterior formação de raízes em alporques de espinheira-santa, uma vez que os mesmos foram avaliados 365 dias após sua confecção, apresentando somente calos e não raízes. Bitencourt, Mayer e Zuffellato-Ribas (2007) observaram em alporques de *Ginkgo biloba*, a presença de calos em todos os alporques e em todos os tratamentos (100,00%), indicando que o surgimento desse tecido indiferenciado é uma condição para a formação de raízes adventícias nessa espécie. No entanto, nem todos os alporques com calos apresentaram raízes, principalmente aqueles que não receberam tratamento auxínico.

Os resultados obtidos na alporquia de espinheira-santa diferem daqueles de Hamann (1998), o qual afirmou que a presença de calos pode ser um indício de enraizamento futuro e nas espécies consideradas de difícil enraizamento geralmente há formação de calos precedente à formação de raízes. Devido à presença de calos e ausência de raízes, os resultados obtidos no presente trabalho concordam com os de Hartmann *et al.* (2002), que afirmaram que a formação das raízes adventícias e dos calos é independente e sua ocorrência simultânea é explicada pelo fato de ambos envolverem o processo de divisão celular, dependente de condições internas e ambientais similares.

A realização do anelamento em alporques de espinheira-santa provocou acúmulo de carboidratos logo acima da região de retirada da casca (Figura 12C), porém não promoveu a formação de raízes. Para alporques de *Ginkgo biloba*, a realização do anelamento não foi suficiente para a indução das raízes adventícias, sendo necessária a aplicação de auxinas sintéticas para a otimização do enraizamento (BITENCOURT; MAYER; ZUFFELLATO-RIBAS, 2007). Entretanto, Araújo, Scarpate Filho e Rodrigues (2004) observaram que em alporques de lichia

(*Litchi chinensis*) o enraizamento foi favorecido pelo acúmulo de carboidratos no local de retirada da casca, sendo este promovido pelo anelamento do ramo.

Em alporques de espinheira-santa, a aplicação de auxinas nas concentrações testadas (0, 1500 e 3000 mgkg<sup>-1</sup> IBA) não foi eficiente na indução da formação das raízes adventícias, sendo esses resultados semelhantes aos de Pacheco, Castro e Appezzato-da-Glória (1998), os quais observaram a formação de poucas raízes em alguns ramos do tratamento com anelamento e a pouca influência da aplicação de regulador vegetal na estimulação da indução radicial em alporques de videira muscadínia. Althaus-Ottmann, Leal e Zuffellato-Ribas (2006) também constataram que a aplicação de IBA nas concentrações 0, 1500 e 3000 mgkg<sup>-1</sup> não proporcionou aumento na indução de raízes adventícias (0,00 a 5,60%) e nem de calos (2,83%) em alporques de manacá (*Brunfelsia uniflora*).

Embora a técnica de alporquia seja uma técnica viável para a produção de mudas de diversas espécies consideradas de difícil enraizamento, a utilização desta técnica em plantas de espinheira-santa com cerca de 6 anos de idade se mostrou inadequada para a produção de mudas. Contudo, deve-se ressaltar que o sucesso desta técnica é dependente da espécie vegetal, do estágio de desenvolvimento da planta, do local do ramo onde se induzirá o enraizamento, da relação carbono/nitrogênio (C/N) e de fatores ambientais condicionados pela época de sua realização, bem como pelo substrato utilizado (SILVA *et al.*, 1993).

Analisando-se os resultados obtidos, constata-se que o material vegetativo proveniente de plantas adultas de espinheira-santa não é favorável ao enraizamento por meio da técnica de alporquia. Para a utilização desta técnica em espinheira-santa deve-se levar em consideração nos trabalhos futuros, o local do ramo para a confecção do alporque, a realização do anelamento parcial ou total, aplicação de IBA e o uso de diferentes substratos. Além disso, é importante considerar que os fatores relacionados à planta matriz favorecem a regeneração de plantas por meio da mergulhia, como por exemplo, a nutrição adequada, elevada atividade fisiológica e a juvenildade dos ramos (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005).

#### 4.3.1.2 Porcentagem de alporques vivos

Como não foi verificada homogeneidade para a porcentagem de alporques vivos (Anexo 18), são apresentadas as médias referentes ao experimento instalado em junho/2005 (Tabela 22).

Os percentuais de sobrevivência foram baixos nos alporques realizados em junho/2005, nos quais observou-se média de sobrevivência numericamente superior no substrato vermiculita (10,00%), enquanto que nos demais sustratos a sobrevivência foi de apenas 1,67%. Com relação a aplicação de IBA, verificou-se porcentagem de sobrevivência sensivelmente superior no tratamento sem o uso de auxina (testemunha), quando comparado aos demais.

TABELA 22 - Porcentagem de alporques de *M. ilicifolia* vivos sob efeito de diferentes substratos e concentrações de ácido indol butírico, avaliados 365 dias após a instalação (junho/2005). UFPR, Curitiba – PR, 2006.

| Substratos                     | Alporques vivos (%)                  |      |       | Médias |
|--------------------------------|--------------------------------------|------|-------|--------|
|                                | Concentrações IBA mgkg <sup>-1</sup> |      |       |        |
|                                | 0                                    | 1500 | 3000  |        |
| FCC                            | 2,50                                 | 0,00 | 2,50  | 1,67   |
| VERM                           | 12,50                                | 7,50 | 10,00 | 10,00  |
| ESF                            | 2,50                                 | 2,50 | 0,00  | 1,67   |
| Médias                         | 5,83                                 | 3,33 | 4,17  |        |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                                      |      |       | 18,229 |
| CV (%)                         |                                      |      |       | 65,46  |

FCC = fibra de casca de coco; VERM = vermiculita; ESF = esfagno.  
\* significativo a 5% de probabilidade.

Para o experimento realizado em janeiro/2006, a análise estatística revelou que não houve interação significativa entre os fatores analisados (concentrações de IBA e substratos), confirmando a independência dos mesmos (Anexo 19). Neste experimento a sobrevivência foi baixa (Tabela 23). Foi verificada diferença significativa entre os substratos fibra de casca de coco (2,50%) e esfagno (0,00%). Não houve diferença significativa para a sobrevivência entre os tratamentos com diferentes concentrações de IBA e, desse modo foi possível constatar que os alporques não responderam à aplicação de IBA nas concentrações testadas.

TABELA 23 - Porcentagem de alporques de *M. ilicifolia* vivos sob efeito de diferentes substratos e concentrações de ácido indol butírico, avaliados 365 dias após a instalação (janeiro/2006). UFPR, Curitiba – PR, 2007.

| Substratos                     | Alporques vivos (%)                  |        |        | Médias              |
|--------------------------------|--------------------------------------|--------|--------|---------------------|
|                                | Concentrações IBA mgkg <sup>-1</sup> |        |        |                     |
|                                | 0                                    | 1500   | 3000   |                     |
| FCC                            | 2,50                                 | 2,50   | 2,50   | 2,50 A              |
| VERM                           | 2,50                                 | 0,00   | 0,00   | 0,83 AB             |
| ESF                            | 0,00                                 | 0,00   | 0,00   | 0,00 B              |
| Médias                         | 1,67 a                               | 0,83 a | 0,83 a |                     |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                                      |        |        | 1,789 <sup>ns</sup> |
| CV (%)                         |                                      |        |        | 118,74              |

FCC = fibra de casca de coco; VERM = vermiculita; ESF = esfagno. Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna, para substratos, e da mesma letra minúscula na linha, para concentrações, não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

\* significativo a 5% de probabilidade.

Os ramos de espinheira-santa podem ter apresentado sensibilidade ao anelamento realizado para favorecer o enraizamento. Na grande maioria das espécies os alporques são avaliados aos 60 ou 90 dias após a instalação do experimento, enquanto que os alporques de espinheira-santa permaneceram em campo por 365 dias, sob condições ambientais diversas, fator este que associado ao anelamento pode ter ocasionado a reduzida porcentagem de alporques vivos.

Ao contrário das baixas porcentagens de sobrevivência observadas em espinheira-santa, em alporques de outras espécies essa porcentagem foi elevada, a exemplo de espiroleira (*Nerium oleander*) (MARÇALLO; ALMEIDA; ZUFFELLATO-RIBAS, 2001), pessegueiro (*Prunus persica*) (CASTRO; SILVEIRA, 2003) e manacá (*Brunfelsia uniflora*) (ALTHAUS-OTTMANN; LEAL; ZUFFELLATO-RIBAS, 2006), com 100,00% de sobrevivência, enquanto que em alporques de marmeleiro japonês (*Chaenomellis sinensis*), a sobrevivência variou de 96,70 a 100,00% (PIO *et al.*, 2007) e em alporques de *Dovyalis* sp a mesma variou de 87,50 a 100,00% (ALMEIDA *et al.*, 2004).

#### 4.3.1.3 Porcentagem de alporques mortos

A análise estatística revelou que não houve interação significativa entre os fatores analisados (concentrações de IBA e substratos) para a variável porcentagem

de alporques mortos, no experimento instalado em junho/2005, demonstrando que os mesmos são independentes (Anexo 18).

As porcentagens de mortalidade dos alporques de espinheira-santa foram altas (Tabela 24). No outono (junho/2005) verificou-se diferença significativa entre os substratos testados, sendo a média de mortalidade no esfagno superior (85,00%) à vermiculita (55,00%) e à fibra de casca de coco (49,17%). Não foi verificada diferença significativa entre as concentrações de IBA testadas nesta época.

TABELA 24 - Porcentagem de alporques de *M. ilicifolia* mortos sob efeito de diferentes substratos e concentrações de ácido indol butírico, avaliados 365 dias após a instalação no (junho/2005). UFPR, Curitiba – PR, 2006.

| Substratos                     | Alporques mortos (%)                 |         |         | Médias              |
|--------------------------------|--------------------------------------|---------|---------|---------------------|
|                                | Concentrações IBA mgkg <sup>-1</sup> |         |         |                     |
|                                | 0                                    | 1500    | 3000    |                     |
| FCC                            | 52,50                                | 50,00   | 45,00   | 49,17 B             |
| VERM                           | 50,00                                | 65,00   | 50,00   | 55,00 B             |
| ESF                            | 85,00                                | 90,00   | 80,00   | 85,00 A             |
| Médias                         | 62,50 a                              | 68,33 a | 58,33 a |                     |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                                      |         |         | 3,557 <sup>ns</sup> |
| CV (%)                         |                                      |         |         | 17,88               |

FCC = fibra de casca de coco; VERM = vermiculita; ESF = esfagno. Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna, para substratos, e da mesma letra minúscula na linha, para concentrações, não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade.

No experimento instalado em janeiro/2006, a análise estatística revelou que a interação entre os fatores foi estatisticamente significativa, indicando a dependência dos fatores testados (Anexo 19). No verão (janeiro/2006) os percentuais de mortalidade foram superiores àqueles observados no outono (Tabela 25). Observou-se diferença significativa entre os substratos testados, sendo a média para o esfagno superior (89,17%) à fibra de casca de coco (74,17%) e à vermiculita (70,00%). Nesta época também não foi verificada diferença significativa entre as concentrações de IBA testadas.

A mortalidade dos alporques de espinheira-santa nas duas épocas do ano pode ser devida ao fato da planta não suportar o anelamento completo dos ramos. Assim como em estacas, a mortalidade dos alporques é variável de acordo com as condições intrínsecas das plantas matrizes e com as condições ambientais (HARTMANN *et al.*, 2002). Os percentuais de alporques mortos verificados no verão/2006 possivelmente estão relacionados ao fato do tecido estar em fase de crescimento, apresentando-se menos lignificado e por isso com maior predisposição

à perda excessiva de água por transpiração, devido às temperaturas mais elevadas nessa estação (Anexos 22 e 23). De acordo com Hoffmann *et al.* (1994), as altas taxas de mortalidade podem estar relacionadas ao estágio de crescimento, balanço hormonal e grau de lignificação dos ramos, sendo decorrentes do baixo grau de lignificação dos tecidos, aliada à elevada temperatura da época do ano em que os alporques foram realizados.

TABELA 25 - Porcentagem de alporques de *M. ilicifolia* mortos sob efeito de diferentes substratos e concentrações de ácido indol butírico, avaliados 365 dias após a instalação (janeiro/2006). UFPR, Curitiba – PR, 2007.

| Substratos                     | Alporques mortos (%)                |     |       |     |       |     | Médias              |
|--------------------------------|-------------------------------------|-----|-------|-----|-------|-----|---------------------|
|                                | Concentrações IBA mkg <sup>-1</sup> |     |       |     |       |     |                     |
|                                | 0                                   |     | 1500  |     | 3000  |     |                     |
| FCC                            | 77,50                               | A a | 67,50 | B a | 77,50 | A a | 74,17               |
| VERM                           | 60,00                               | B a | 75,00 | B a | 75,00 | A a | 70,00               |
| ESF                            | 87,50                               | A a | 95,00 | A a | 85,00 | A a | 89,17               |
| Médias                         | 75,00                               |     | 79,17 |     | 79,17 |     |                     |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                                     |     |       |     |       |     | 3,102 <sup>ns</sup> |
| CV (%)                         |                                     |     |       |     |       |     | 11,87               |

FCC = fibra de casca de coco; VERM = vermiculita; ESF = esfagno. Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna, para substratos, e da mesma letra minúscula na linha, para concentrações, não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade.

Segundo Nicoloso, Fortunato e Fogaça (1999), estacas provenientes de ramos com tecidos tenros também possuem limitada quantidade de reserva de nutrientes orgânicos e inorgânicos em seus tecidos, sendo esta uma das causas do baixo percentual de sobrevivência. Entretanto, no caso da alporquia, mesmo com os ramos menos lignificados como na época do verão/2006, a quantidade de reservas não é fator limitante uma vez que o anelamento faz com que haja o acúmulo de carboidratos provenientes do processo de fotossíntese na região superior do anel.

Os substratos dos alporques de espinheira-santa foram umedecidos quando a redução do teor de umidade foi observada. No momento de avaliação, os três tipos de substratos apresentavam-se úmidos, portanto o déficit hídrico não pode ser considerado causa de mortalidade dos alporques. Entretanto, o excesso de umidade retida e a reduzida aeração do sustrato esfagno parecem ter ocasionado o aumento na mortalidade dos alporques, uma vez que a espinheira-santa não tolera substratos encharcados.

#### 4.3.2 Análises anatômicas

No caule das plantas de espinheira-santa onde foram feitos os alporques no verão (janeiro/2006), o cilindro vascular encontra-se em crescimento secundário, sem instalação de felogênio, apresentando ainda epiderme unisseriada com cutícula espessa (Figura 13A). Abaixo da epiderme forma-se um tecido caloso composto por diversas camadas de células parenquimáticas distribuídas em toda a extensão da incisão (Figura 13A). Em alporques de espinheira-santa, a formação do calo ocorre nas camadas mais externas do córtex, embora na maioria dos casos essas camadas celulares sejam originárias de áreas floemáticas da casca, localizadas acima e abaixo da incisão por anel (SIDLOWSKI; PHILLIPS; KUYKENDALL, 1971; PACHECO; CASTRO; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 1998).

Pode-se observar ainda que o caule apresenta saliências, estruturas características de *Maytenus ilicifolia* (Figura 13C). Cada saliência é formada por um grupo de fibras envolvidas por uma camada de células parenquimáticas aclorofiladas, chamadas de carena. Geralmente os ramos novos possuem estas saliências, sendo denominados ramos novos angulosos, tetra ou multicarenados (CARVALHO-OKANO, 1992), ou ainda cada uma destas estruturas pode ser denominada inadequadamente de ranhura (JACOMASSI; MACHADO, 2003).

O córtex é composto por seis a dez camadas de células parenquimáticas com conteúdo denso (compostos fenólicos). As fibras pericíclicas e braquiesclereídes, isoladas ou em pequenos grupos, formam uma camada quase contínua envolvendo o cilindro vascular de *Maytenus ilicifolia* (Figura 13A e 13B). De acordo com Jacomassi e Machado (2003) na região cortical mais interna do caule de *Maytenus ilicifolia*, existem grupos de fibras e esclereídes, sendo as últimas de formas variadas, com predominância de braquiesclereídes. No entanto, segundo Duarte e Debur (2005) o córtex do caule de espinheira-santa é limitado por um anel esclerenquimático quase contínuo e composto de fibras e esclereídes.

Análises realizadas nas secções transversais dos alporques com calos e raízes não permitiram a observação de primórdios radiciais em formação e nem de raízes formadas. Como a porcentagem de alporques de espinheira-santa enraizados foi baixa, não foi possível verificar o local exato de origem das raízes nos mesmos quando foram seccionados para a preparação das lâminas.

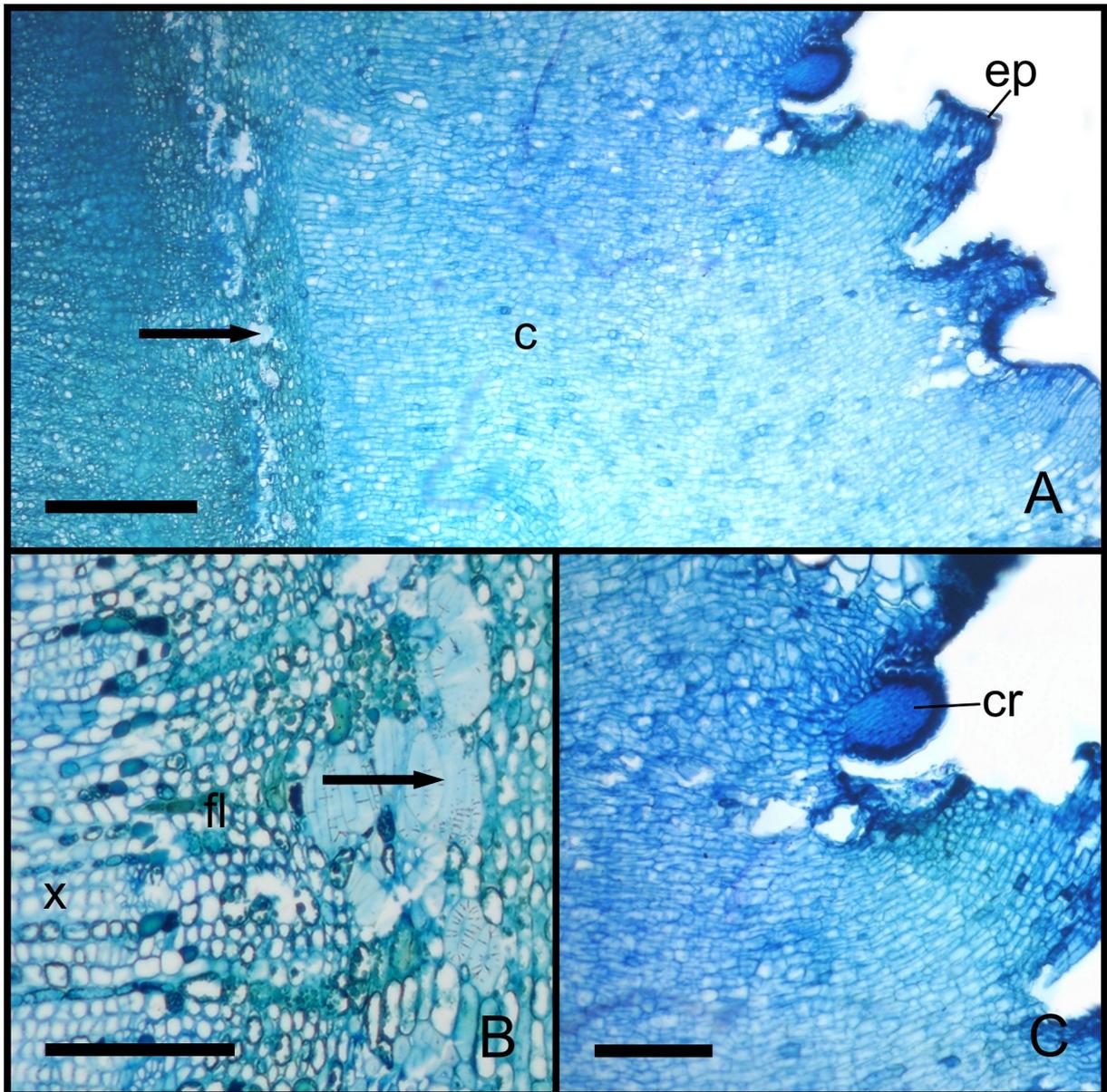


FIGURA 13 - Secções transversais da região da incisão por anel de alporques de *M. ilicifolia* aos 365 dias após a instalação do experimento (janeiro/2007). A. Visualizar epiderme (ep), camadas de células parenquimáticas do tecido caloso (c) e camada de fibras pericíclicas e braquiesclereídes (→). Barra = 200  $\mu$ m. B. Visualizar floema (fl), xilema (x) e detalhe das fibras pericíclicas e braquiesclereídes dispersos no córtex (→). Barra = 100  $\mu$ m. C. Visualizar tecido caloso e a presença da ranhura ou carena (cr) presente nos ramos novos de *Maytenus ilicifolia*. Barra = 200  $\mu$ m. UFPR, Curitiba – PR, 2007.

#### 4.4 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente experimento, foi possível concluir que:

A alporquia de espinheira-santa nos três substratos testados e na presença de IBA até a concentração de  $3000 \text{ mgL}^{-1}$  ou  $\text{mgkg}^{-1}$ , efetuada por até 365 dias não é indicada para a formação de raízes.

Por meio das análises anatômicas observou-se a formação de tecido caloso a partir das camadas corticais mais externas nos alporques de espinheira-santa.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F. C. G.; ALMEIDA, F. A. G.; CARVALHO, P. R.; LEÃO, R. A. O.; NOGUEIRA FILHO, G. C.; VIEIRA, V. A. Efeito da quebra da dominância apical no sistema radicular no pegamento em campo de alporques de cajueiro. **Revista da Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 13, n. 1, p. 251-255, 1991.

ALMEIDA, E. J. de; JESUS, N. de; GANGA, R. M. D.; BENASSI, A. C.; SCALOPPI JUNIOR, E. J.; MARTINS, A. B. G. Propagação de *Dovyalis* sp pelo processo de mergulhia aérea. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 511-514, 2004.

ALTHAUS-OTTMANN, M. M.; LEAL, L.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Propagação vegetativa de manacá (*Brunfelsia uniflora* (Pohl.) D. Don). **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 12, n. 1, p. 31-36, 2006.

ARAÚJO, J. P. C.; SCARPARE FILHO, J. A.; RODRIGUES, A. Alporquia em lichia: épocas e concentrações de carboidratos solúveis em ramos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 15., 2004, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, 2004. Resumos expandidos em CD.

BITENCOURT, J.; MAYER, J.L.S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C. Propagação vegetativa de *Ginkgo biloba* por alporquia. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.9, n.2, p.71-74, 2007.

BORDIGNON, R.; MEDINA FILHO, H. P. Alporquia em café: técnica simples para clonar e preservar nossos estratégicos recursos genéticos. **O Agrônomo**, Campinas, v. 55, n. 2, p. 10-11, 2003.

CARVALHO-OKANO, R. M. **Estudo taxonômico do gênero *Maytenus* Mol. Emend. Mol. (CELASTRACEAE) do Brasil extra-amazônico.** 253 f. Tese (Doutorado em Ciências, Biologia Vegetal) – Setor de Ciências, Universidade de Campinas, Campinas, 1992.

CASTRO, L. A. S. da; SILVEIRA, C. A. P. Propagação vegetativa do pessegueiro por alporquia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 368-370, 2003.

CORRÊA JÚNIOR, C.; MING, L. C.; SCHEFFER, M. C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas.** Curitiba: EMATER, 1991. 151 p.

DANNER, M. A.; CITADIN, I.; FERNANDES JUNIOR, A. de A.; ASSMANN, A. P.; MAZARO, S. M.; DONAZZOLO, J.; SASSO, S. A. Z. Enraizamento de jaboticabeira (*Plinia trunciflora*) por mergulhia aérea. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 3, p. 530-532, 2006.

DOLE, J. M.; WILKINS, H. F. **Floriculture**: principle and species. 1. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1999. 613 p.

DUARTE, M. R.; DEBUR, M.C. S. Stem and leaf morphoanatomy of *Maytenus ilicifolia*. **Fitoterapia**, Milano , v. 76, p. 41-49, 2005.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Levantamento de reconhecimento dos solos do Estado do Paraná**. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1999. 412 p.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 221 p.

FEDER, N.; O'BRIEN, T. P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany**, Saint Louis, v. 55, p. 123-142, 1968.

FLORES, R.; STEFANELLO, S.; FRANCO, E. T. H.; MANTOVANI, N. Regeneração *in vitro* de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 4, n. 3, p. 201-205, 1998.

FRANÇA, S. C.; PEREIRA, A. M. S. Espinheira-santa: do estudo à viabilização de um fitoterápico brasileiro contra úlcera gástrica. **Revista Racine**, São Paulo, v. 7, n. 40, p. 67-69, 1997.

HAMANN, A. Adventitious root formation in cuttings of loblolly pine (*Pinus taeda* L.): developmental sequence and effects of maturation. **Trees**, Heidelberg, v. 12, p. 175-180, 1998.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation**: principles e practices. 7 ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002. 880 p.

HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; ROSSAL, P. A. L.; CASTRO, A. M.; FACHINELLO, J. C.; PAULETTO, E. A. Influência do substrato sobre o enraizamento

de estacas semilenhosas de figueira e araçazeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 16, n. 1, p. 302-307, 1994.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ (IAPAR). **Cartas climáticas do estado do Paraná**. Londrina, 1994. 49 p. (Documento 18)

JACOMASSI, E. MACHADO, S. R. Características anatômicas de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek 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**, Botucatu, v. 6, n. 1, p. 84-96, 2003.

JANICK, J. **A ciência da horticultura**. Rio de Janeiro: Agência Norte-Americana para o Desenvolvimento Internacional (USAID), 1966. 485 p.

KÄMPF, A. N. Substrato. In: KÄMPF, A. N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. Guaíba: Agropecuária, 2000. p. 45-73.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: MacGraw – Hill, 1940. 523 p.

LEDERMAN, I. E.; BEZERRA, J. E. F.; ASCHOFF, M. N. A.; OLIVEIRA, E. N. M.; ROSA, J. M. G. Propagação vegetativa do umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) e de gravioleira (*Annona muricata* L.) através da alporquia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 13, n. 1, p. 19-26, 1991.

LIMA, Y. O. U. de; RITTER, M.; ALCÂNTARA, G. B. de; LIMA, D. M. de; FOGAÇA, L. A.; QUOIRIN, M.; CUQUEL, F. L.; BIASI, L. A. Tipos de estacas e substratos no enraizamento de jambolão. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 8, n. 4, p. 449-453, 2007.

LUCCHESI, A. A. Propagação de plantas através da alporquia. Piracicaba: ESALQ/CENA, 1993. p. 1-8. (Informativo Técnico, n.13).

MARÇALLO, F. A.; ALMEIDA, R. C.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Propagação da espirradeira por meio da técnica da alporquia em diferentes substratos. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 2, n. 1-2, p. 123-125, 2001.

MARTINS, A. B. G.; ANTUNES, E. C. Propagação do jambeiro-rosa (*Syzigium jambos* L. Alston) pelo processo de alporquia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 2, p. 205-207, 2000.

NICOLOSO, F. T.; FORTUNATO, R. P.; FOGAÇA, M. A. F. Influência da posição da estaca no ramo sobre o enraizamento de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen em dois substratos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 2, p. 277-283, 1999.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; McCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, Vienna, v. 59, n. 2, p. 368-373, 1965.

PACHECO, A. C.; CASTRO, P. R. C.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Aspectos anatômicos do enraizamento de videira muscadínia (*Vitis rotundifolia* Michx.) através de alporquia. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, n. 2, p. 210-217, 1998.

PEREIRA, A. M. S. Micropropagação de *Maytenus aquifolium* Mart. e *Maytenus ilicifolia* Mart. (espinheira-santa). In: MING., L. C. *et al.* (Coord.). **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: UNESP, 1998. v. 2, p.19-32.

PIO, R.; DALL'ORTO, A. C.; ALVARENGA, A. A.; ABRAHÃO, E.; CHAGAS, E. A.; SIGNORINI, G. Propagação do marmeleiro 'japonês' por estaquia e alporquia realizadas em diferentes épocas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 570-574, 2007.

RADOMSKI, M. I. **Caracterização ecológica e fitoquímica de *Maytenus ilicifolia* Mart., em populações nativas, no município da Lapa – Paraná**. 98 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1998.

SIDLOWSKI, J. J.; PHILLIPS, W. S.; KUYKENDALL, J. R. Phloem regeneration across girdles of grape vines. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 96, p. 97-102, 1971.

SILVA, K. M. B. e; ALMEIDA, F. C. G.; ALMEIDA, F. A. G.; SILVA, P. S. L. e; ALBUQUERQUE, J. J. L. de. Efeito do substrato no enraizamento de alporques do urucuzeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 101-106, 1993.

SILVA, C. de P. **Efeitos do NAA, ácido bórico, paclobutrazol e da época de coleta, no enraizamento de estacas caulinares de espinheira-santa (*Maytenus aquifolia* Mart.)**. 99 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas, Botânica) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1999.

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

## 5 CAPÍTULO IV – MERGULHIA DE CEPAS DE ESPINHEIRA-SANTA

### RESUMO

A espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*) possui ação antiulcerogênica comprovada desde 1988 e a partir deste ano houve recomendação do uso da espécie e um conseqüente aumento da demanda de matéria-prima vegetal no Brasil. O incentivo ao uso da espécie pela população e principalmente por programas alternativos de saúde, aliado à coleta indiscriminada das folhas, colocaram a espécie em risco de extinção. Desse modo, estudos sobre a produção de mudas por meio de propagação vegetativa tornam-se cada vez mais necessários. Até o momento, a técnica de estaquia não foi considerada viável para a produção de mudas, uma vez que a espécie é considerada de difícil enraizamento. Desse modo, busca-se testar outras técnicas de propagação vegetativa para a produção de mudas, sendo a mergulhia de cepa uma alternativa para a propagação da espécie. O presente trabalho teve por objetivo verificar a resposta de enraizamento de brotações de espinheira-santa por meio da mergulhia de cepa, bem como avaliar a sobrevivência das mudas obtidas. O experimento de mergulhia foi realizado em 50 plantas matrizes de 3 anos de idade, oriundas de sementes, localizadas no viveiro do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba - PR. As plantas matrizes sofreram poda drástica a 5 cm do solo no mês de dezembro de 2005 e a amontoa com terra foi realizada em fevereiro de 2006. Aos 365 dias após a instalação do experimento foram avaliadas as variáveis: número de brotações por planta, número de brotações enraizadas por planta, número médio de raízes por brotação e número de brotações vivas não enraizadas por planta. As mudas foram transplantadas para vasos de 15 L contendo solo e Plantmax HT<sup>®</sup> na proporção 1:1 e mantidas em casa-de-vegetação. Aos 165 dias após o transplante avaliou-se a sobrevivência das mudas obtidas. O número médio de brotações formadas por planta de espinheira-santa foi de 2,21, com enraizamento de 67,31% das brotações emitidas e número médio de raízes/brotação de 6,37. A taxa de sobrevivência das mudas após o transplante para os vasos foi de 45,71%. A propagação vegetativa de espinheira-santa por meio de mergulhia de cepa é viável.

Palavras-chave: Enraizamento. *Maytenus ilicifolia*. Espécie medicinal. Propagação vegetativa.

## 5 CHAPTER IV – STOOL LAYERING OF *Maytenus ilicifolia*

### ABSTRACT

*Maytenus ilicifolia* has proven anti-ulcer activity since 1988, from that year until now has been recommended the use of this species and was observed a great increase on demand of vegetative raw material in Brazil. The incentive to the use of the species by the population and mainly for alternative health programs, ally to the indiscriminate leaves harvest, had placed the species at risk of extinction. On this way, it is necessary more studies about seedling production by vegetative propagation. Until now, the cutting technique is not considered feasible for seedling production, since the species is considered recalcitrant. However, other techniques of vegetative propagation have been tested for seedling production, being the stool layering technique one alternative to species propagation. The present work aimed to evaluate the rooting of *M. ilicifolia* shoots by stool layering propagation, and evaluate the survival of the obtained seedlings. The experiment of stool layering was realized in 50 mother plants of 3 years old, generated from seeds, located at the nursery of Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba - PR. The mother plants were submitted to a drastic pruning at 5 cm from soil level on December/2005, and the soil heap was realized on February/2006. At 365 days after experiment installation it was evaluated the variables: number of shoots per plant, number of shoots rooted per plant, mean number of roots per shoot, and number of alive shoots without roots per plant. The seedlings were transplanted to pots of 15 L containing soil and Plantmax HT<sup>®</sup> in the proportion of 1:1, and maintained in greenhouse. At 165 days after transplant it was evaluated the survival of obtained seedlings. Mean number of formed shoots per plant of *M. ilicifolia* was about 2.21, with rooting of 67.31% of the emitted shoots, and the mean number of roots per shoot was 6.37. The survival seedling after transplant on the pots was about 45.71%. Vegetative propagation of *M. ilicifolia* by stool layering has been feasible.

Key words: Rooting. *Maytenus ilicifolia*. Medicinal species. Vegetative propagation.

## 5.1 INTRODUÇÃO

*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, Celastraceae, conhecida popularmente como espinheira-santa, é uma espécie subtropical medicinal nativa da América do Sul, sobretudo da região Sul do Brasil (CARVALHO-OKANO; LEITÃO-FILHO, 2004; SILVA JÚNIOR; OSAIDA, 2006). A eficácia terapêutica da espécie foi comprovada quando demonstrou-se que o chá das folhas de espinheira-santa tinha ação antiulcerogênica tão eficiente quanto as principais drogas antiúlcera existentes no mercado (CARLINI, 1988; LORENZI; MATOS, 2002; RADOMSKI; SCHEFFER, 2004).

A grande maioria dos plantios comerciais de espinheira-santa é formada a partir de mudas oriundas de sementes. As sementes são de comportamento ortodoxo, perdendo rapidamente a viabilidade quando armazenadas fora da câmara fria (SCHEFFER; DONI; KOEHLER, 1994). Além disso, plantas vindas de sementes possuem grande variabilidade quanto à morfologia e ao teor de metabólitos secundários (PEREIRA, 1998).

A propagação assexuada é eficiente na obtenção de material homogêneo, com características genéticas desejáveis, produzidas a partir de plantas matrizes selecionadas, e também na redução do tempo de obtenção de mudas (SILVA, 1999). As técnicas de propagação vegetativa são utilizadas para a produção de mudas em larga escala e, nesse sentido, a estaquia apresenta vantagens como a facilidade de propagação e o baixo custo devido à alta produtividade em curto período de tempo (ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001). Contudo, a propagação de espinheira-santa por estaquia caulinar não tem se mostrado um método eficiente, pois a espécie *Maytenus aquifolia* pode ser considerada de difícil enraizamento (SILVA, 1999), bem como *Maytenus ilicifolia*. A propagação vegetativa de espinheira-santa também pode ocorrer por micropropagação, alporquia, mergulhia e por rebentos nascidos de raízes (SILVA JÚNIOR, 2003).

Segundo Silva Júnior (2003), a mergulhia de espinheira-santa consiste em enterrar um dos ramos flexíveis e basais da planta matriz, para que, ao longo de 30 a 40 dias ocorra a formação de raízes. A parte do ramo que ficará sob o solo deve ser raspada ou anelada parcialmente numa extensão de 1 a 2 cm. É bastante utilizada para propagar clones de difícil enraizamento e de outras espécies, desde

que o interesse na propagação justifique o uso da técnica, os custos e a mão-de-obra necessária para a realização da mergulhia (HARTMANN *et al.*, 2002).

Na mergulhia, a separação da brotação da planta mãe ocorrerá após o enraizamento. Este método de propagação é caracterizado pela sua simplicidade e alta porcentagem de enraizamento e a principal razão do seu sucesso é o estiolamento proporcionado pela ausência de luz nas partes onde se deseja enraizar, além da continuidade no suprimento de água e nutrientes para o ramo (EPAGRI, 2002; FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005).

Na propagação comercial de plantas frutíferas, a mergulhia de cepa é um processo bastante utilizado na obtenção de porta-enxertos de macieira, pereira e marmeleiro (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005), na produção de mudas de groselha (RELF; BALL, 2001) e cerejeira (WESTWOOD, 1982), magnólia e loureiro (EVANS; BLAZICH, 1999). Para a produção de mudas de avelã, a mergulhia simples é tradicionalmente utilizada, mas devido à alta porcentagem de perda, vem sendo substituída pela mergulhia de cepa, cuja eficiência na produção de brotações é cerca de 60% maior que no primeiro método (PIERCE, 1991; ERDOGAN; SMITH, 2005).

Este método é utilizado nos casos em que as plantas apresentam dificuldade de enraizamento por estaquia ou não podem ser propagadas por outros métodos (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005), como por exemplo, os porta-enxertos de macieira da série M e MM que possuem dificuldade de enraizamento por estaquia (EPAGRI, 2002). Entretanto, para a espinheira-santa e outros representantes da família Celastraceae, não foram encontrados trabalhos que recomendassem a mergulhia de cepa como um método viável para a produção de mudas. Todavia, devido à sua importância medicinal, econômica e ecológica, a mergulhia de cepa poderia ser um método alternativo de propagação vegetativa desta espécie.

Assim, o presente trabalho teve por objetivo verificar a resposta de enraizamento de brotações de espinheira-santa por meio da mergulhia de cepa, bem como avaliar a sobrevivência das mudas obtidas.

## 5.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.2.1 Mergulhia de cepa

O experimento de mergulhia foi realizado em 50 plantas matrizes de três anos de idade, oriundas de sementes, localizadas no viveiro do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná,

Curitiba-PR. O Departamento está localizado no perímetro urbano de Curitiba, Rua dos Funcionários, 1540, bairro Juvevê. As coordenadas geográficas centrais aproximadas são: latitude 25°24'45" S e longitude 49°14'54" W, com altitude de 930 m. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é classificado como Cfb, mesotérmico úmido sem estação seca definida, com temperatura mínima média de 12,5°C e temperatura máxima média de 22,5°C, estando sujeito a geadas severas (mais de cinco por ano). A precipitação média anual da região é de 1400 a 1500 mm, sendo os meses de abril e maio os mais secos com média de 75 a 100 mm (IAPAR, 1994).

As mudas permaneceram em vasos de 15 L por dois anos e foram transplantadas para o viveiro em março de 2005, para uma área de 8 m x 5 m, com espaçamento de 0,5 m na linha e 1,5 m na entrelinha. As plantas matrizes sofreram poda drástica a 5 cm do solo no mês de dezembro de 2005. Após a poda foi feita a aplicação de 20 g de NPK 4-30-10 por planta.

A amontoa com terra foi realizada dois meses após o corte, em fevereiro de 2006 (Figuras 14A, B e C), quando as brotações possuíam comprimento bastante variado, de 5 a 30 cm. O volume de solo foi aumentado mensal e gradualmente até o sexto mês, conforme o crescimento das plantas. Sobre o solo foram depositados restos de material vegetal (grama, folhas e ramos de caquizeiro, pereira, etc.) para melhorar a retenção de umidade e reduzir o surgimento de plantas invasoras (Figura 14E). As capinas para limpeza da área foram realizadas mensalmente (Figura 14D).



FIGURA 14 - Mergulhia de cepa de espinheira-santa. A. Planta de espinheira-santa com novas brotações, dois meses após a poda drástica. B. Realização da amontoa. C. Amontoa realizada. D. Local do plantio. E. Colocação de cobertura morta sobre a amontoa. UFPR, Curitiba – PR, 2007.

Aos 365 dias após o plantio foram avaliadas as variáveis: número de brotações por planta, número de brotações enraizadas por planta, número de raízes por brotação e número de brotações vivas não enraizadas. A retirada do solo da amostra foi realizada manualmente e, para a realização da avaliação as brotações enraizadas (mudas) foram separadas das plantas matrizes com o uso de tesoura de poda.

#### 5.2.2 Sobrevivência das mudas

Após a avaliação e retirada das brotações enraizadas (mudas) das plantas matrizes, as mesmas foram transplantadas para vasos de polipropileno com capacidade de 15 L contendo solo e Plantmax HT<sup>®</sup> na proporção 1:1 e mantidas em casa-de-vegetação. A irrigação das mudas foi feita manualmente com regador, três vezes por semana ou sempre que houvesse necessidade. A sobrevivência das mudas foi avaliada aos 165 dias após o transplante.

## 5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.3.1 Mergulhia de cepa

Aos 365 dias após o início do experimento verificou-se que o número médio de brotações formadas por planta de espinheira-santa foi de 2,21. Resultados semelhantes foram obtidos em experimento de mergulhia de cepa realizado em goiabeira (*Psidium guajava*) com diferentes alturas de corte das plantas matrizes, no qual foi verificada a formação de 2,85 brotações por planta com corte a 5 cm do solo (CALLOVY FILHO; NACHTIGAL; KERSTEN, 1995). Entretanto, na propagação de goiabeira serrana (*Feijoa sellowiana*) por mergulhia de cepa, foi obtida uma média de 18,42 brotações formadas por planta (FACHINELLO; NACHTIGAL, 1992).

A baixa emissão de brotações (2,21 brotações/planta) pelas plantas matrizes de espinheira-santa pode estar relacionada a diversos fatores, como a capacidade de regeneração celular da espécie, idade da planta matriz, estado nutricional e época de realização do corte, conforme citado por Callovy Filho, Nachtigal e Kersten (1995) para a mergulhia de cepa de goiabeira (*Psidium guajava* L.). Comercialmente, a mergulhia de cepa é o principal método de propagação de porta-enxertos de macieira e, segundo Grellmann (1988), é possível a obtenção de 7 a 15 brotações enraizadas desta espécie por planta matriz. Contudo, de acordo com Epagri (2002), após o terceiro ano, obtém-se cerca de cinco brotações em condições de enxertia por planta matriz de macieira.

Com relação ao número de brotações enraizadas por planta de espinheira-santa, observou-se que em média 1,94 brotações por planta enraizaram após 12 meses, ou seja, 67,31% das brotações emitidas (Figuras 15A a 15C). A resposta de enraizamento da espécie com uso desta técnica pode ser considerada promissora, uma vez que a maior porcentagem de enraizamento conhecida de espinheira-santa sem a aplicação de auxinas (23,95%) foi obtida em estacas herbáceas (SILVA, 1999).

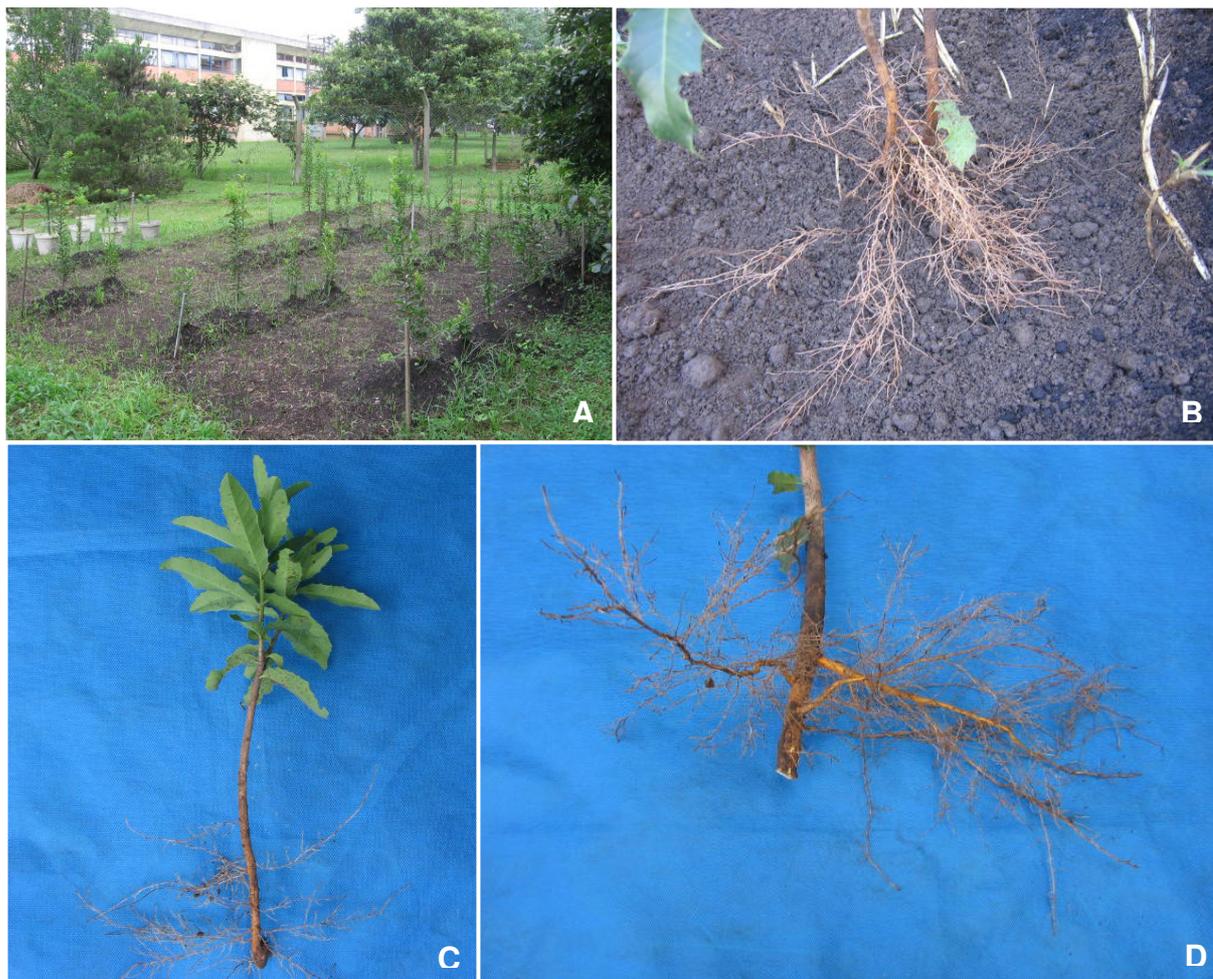


FIGURA 15 - Mergulhia de cepa de espinheira-santa. A. Plantio de espinheira-santa aos 365 dias após a amontoa. B. Brotações enraizadas. C. Muda formada após a separação da planta matriz. D. Detalhe do sistema radicial. UFPR, Curitiba – PR, 2007.

Os resultados de enraizamento (67,31%) verificados no presente trabalho foram promissores quando comparados àqueles obtidos com outras espécies, como a goiabeira serrana, no qual foi verificado enraizamento de 36,16%, ou seja, das 18,42 brotações emitidas por planta, somente 6,66 brotações por planta enraizaram após 11 meses de amontoa (FACHINELLO; NACHTIGAL, 1992). Em trabalho realizado com plantas de *Eucalyptus urophylla* de quatro anos de idade e altura de corte a 10 cm do solo, 42,85% das plantas testadas emitiram brotações enraizadas após 3 meses de mergulhia (VALLE; FERREIRA; CALDEIRA, 1977). No entanto, para outras espécies como a goiabeira (15 meses de idade), com altura de corte a 5 cm do solo observou-se que 100% das brotações formadas enraizaram (2,85) após 6 meses de mergulhia (CALLOVY FILHO; NACHTIGAL; KERSTEN, 1995).

Com relação ao número médio de raízes formadas por brotação constatou-se que este foi de 6,37 (CV = 81,57%) (Figura 15D). Este resultado permite considerar que o material utilizado apresentou características anatômicas e fisiológicas favoráveis à formação de raízes, quando comparado aos resultados obtidos por Silva (1999), em estacas herbáceas de espinheira-santa, com número médio de 2,62 raízes formadas por estaca no verão. Em condições semelhantes às do presente trabalho, plantas de goiabeira serrana emitiram 2,86 raízes por brotação (FACHINELLO; NACHTIGAL, 1992), enquanto que as de goiabeira chegaram a formar 8,7 raízes por brotação (CALLOVY FILHO; NACHTIGAL; KERSTEN, 1995).

As raízes formadas nas brotações de cepa de espinheira-santa submetidas a mergulhia foram emitidas ao longo do caule. Em muitos casos foi possível observar a disposição alterna das raízes, seguindo a filotaxia e comprovando a origem dessas nas proximidades das gemas (Figuras 15B a 15D).

No presente trabalho, o experimento de mergulhia de cepa foi instalado na época do verão, fato este que interferiu no enraizamento das brotações de espinheira-santa, uma vez que a época do ano é extremamente importante para o processo de iniciação das raízes e desenvolvimento dos caules durante o processo de mergulhia. A realização do experimento nesta época pode ter influenciado positivamente o enraizamento das brotações de espinheira-santa.

O enraizamento está associado ao acúmulo de carboidratos e de diversas outras substâncias, entretanto, os resultados obtidos para espinheira-santa, não suportam as afirmações de Hartmann *et al.* (2002) e Fachinello, Hoffmann e Nachtigal (2005), de que a época mais adequada para a realização da amontoa

seria a primavera, uma vez que as gemas que estavam dormentes durante o inverno, poderiam iniciar seu desenvolvimento. Fachinello e Nachtigal (1992) realizaram experimento de mergulhia de cepa com goiabeira serrana em agosto e, das 18,42 brotações formadas/planta, obtiveram 6,66 brotos enraizados/planta.

A época de florescimento da espinheira-santa inviabilizaria a realização da mergulhia de cepa na primavera, pois as plantas encontram-se em plena floração e no início do processo de frutificação, uma vez que, o florescimento da espécie ocorre entre os meses de agosto a novembro, e a frutificação de outubro a março, podendo ocorrer frutificações mais precoces nos estados sulinos (SILVA JÚNIOR, 2003).

Como o experimento de mergulhia de cepa de espinheira-santa foi avaliado um ano após a sua instalação, algumas das brotações apresentavam excessivo alongamento, diâmetro bastante variável e consistência lenhosa. Em muitas espécies, as mudanças ocorridas entre as fases juvenil e adulta apresentam modificações anatômicas, fisiológicas e bioquímicas (SALISBURY; ROSS, 1992), estando a capacidade de formar raízes relacionada à fase juvenil de crescimento, à época do ano e ao tipo de estaca. Vários estudos indicam que a dificuldade de enraizamento em algumas espécies está associada à presença de tecidos de sustentação na região cortical do caule, que bloqueiam mecanicamente o primórdio radicial formado, atuando como barreiras mecânicas (HARTMANN *et al.*, 2002).

Em escala comercial a produção de mudas por meio mergulhia de cepa ainda não é economicamente viável. Contudo, pode-se considerar a viabilidade da técnica para a propagação de espinheira-santa em condições especiais, como por exemplo, no resgate de genótipos selecionados de plantas matrizes adultas. Alguns experimentos estão sendo realizados nesse sentido com a técnica de mergulhia aérea (alporquia), a qual tem sido considerada como uma ferramenta eficiente para a conservação de germoplasma de café e preservação da diversidade genética da espécie (BORIGNON; MEDINA FILHO, 2003).

Os resultados revelaram grande variabilidade no enraizamento das plantas de espinheira-santa, o que pode ser atribuído à origem genética do material, uma vez que as plantas matrizes são originárias de sementes. Contudo, os resultados obtidos no presente trabalho também evidenciaram o potencial da mergulhia de cepa como método viável de propagação da espinheira-santa, embora sejam necessários novos estudos. Resultados satisfatórios têm sido obtidos em algumas espécies com o uso de anelamento das brotações e aplicação de auxinas (WOOD, 1989; ERDOGAN;

SMITH, 2005), diferentes alturas de corte da parte aérea (CALLOVY FILHO; NACHTIGAL; KERSTEN, 1995) e uso de diferentes substratos para o enraizamento das brotações (MENEZES *et al.*, 2003).

### 5.3.2 Sobrevivência das mudas

A sobrevivência das mudas de espinheira-santa obtidas por mergulhia de cepa foi avaliada aos 165 dias após o transplante para os vasos (Figura 16A). Verificou-se que a porcentagem de sobrevivência das mudas foi de 45,71%, apresentando alongamento caulinar e desenvolvimento de brotações (Figuras 16B a 16D). Entretanto, a taxa de mortalidade observada nestas mudas foi elevada (54,29%), o que deve ter ocorrido pela variabilidade observada no sistema radicular das mesmas. A mortalidade provavelmente ocorreu em mudas com sistema radicular formado por menor número de raízes e apresentando menor desenvolvimento. Sendo assim, são necessários outros estudos a respeito dessa técnica e de sua utilização para tornar viável a produção comercial de mudas de espinheira-santa.



FIGURA 16 - Sobrevivência de mudas de espinheira-santa oriundas da mergulhia de cepa. A. Mudanças de espinheira-santa aos 135 dias após o transplante. B. Alongamento caulinar aos 135 dias. C. Crescimento dos ramos laterais das mudas aos 165 dias após o transplante. D. Detalhe do crescimento dos ramos laterais e dos rebentos. UFPR, Curitiba – PR, 2007.

## 5.4 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o presente experimento, foi possível concluir que:

O enraizamento de espinheira-santa por meio da mergulhia de cepa é viável; entretanto, a sobrevivência das mudas obtidas por meio desta técnica ainda é considerada baixa para a produção em escala comercial.

## REFERÊNCIAS

BORDIGNON, R.; MEDINA FILHO, H. P. Alporquia em café: técnica simples para clonar e preservar nossos estratégicos recursos genéticos. **O Agrônomo**, Campinas, v. 55, n. 2, p. 10-11, 2003.

CALLOVY FILHO, C.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E. Propagação da goiabeira (*Psidium guajava* L.) pelo método de mergulhia de cepa. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 1, n. 2, p. 112-114, 1995.

CARLINI, E. A. (Coord.) **Estudo da ação antiúlcera gástrica de plantas brasileiras: *Maytenus ilicifolia* (espineira-santa) e outras**. Brasília: CEME/AFIP, 1988. 87 p.

CARVALHO-OKANO, R. M.; LEITÃO-FILHO, H. de F. O gênero *Maytenus* Mol. emend. Mol. (Celastraceae) no Brasil extra-amazônico. In: REIS, M. S. dos; SILVA, S. R. (Org.) **Conservação e uso sustentável de plantas medicinais e aromáticas: *Maytenus* spp., espineira-santa**. Brasília: Ibama, 2004. v. 1, p.11-52. (Coleção plantas medicinais e aromáticas: espineira-santa).

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA (EPAGRI). **A cultura da macieira**. Florianópolis: Pallotti, 2002. 743 p.

ERDOGAN, V.; SMITH, D. C. Effect of tissue removal and hormone application on rooting of hazelnut layers. **Hortscience**, Alexandria, v. 40, n. 5, p.1457-1460, 2005.

EVANS, E.; BLAZICH, F. A. Plant propagation by layering: instructions for the home gardener. **Horticulture Information Leaflet**, Carolina do Norte, n. 8701, p. 1-3, 1999. Disponível em: <<http://www.ces.ncsu.edu/depts/hort/hil/pdf/hil-8701.pdf>>. Acesso em: 15/06/07.

FACHINELLO, J. C.; NACHTIGAL, J. C. Propagação da goiabeira serrana *Feijoa sellowiana* Berg. através da mergulhia de cepa. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 49, n. 1, p. 37-39, 1992.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 221 p.

GRELLMANN, E. **Propagação de porta-enxertos de macieira**. Porto Alegre, p. 11-14, 1988. (Ipagro Informa, n. 31)

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles e practices**. 7. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002. 880 p.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ (IAPAR). **Cartas climáticas do estado do Paraná**. Londrina, 1994. 49p. (Documento 18)

LORENZI, H.; MATOS, F. J. de A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512 p.

MENEZES, G. G. de; BIANCHI, V. J.; MARTINS, A. S.; FACHINELLO, J. C. Efeito de diferentes substratos no enraizamento de porta-enxertos de marmeleiro "C", propagado por mergulhia. In: XII CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 12., 2003, Pelotas. **Anais...** Pelotas: UFPel, 2003. Disponível em: <[http://www.ufpel.edu.br/cic/2003/relatorios/conteudo\\_CA.html#01021](http://www.ufpel.edu.br/cic/2003/relatorios/conteudo_CA.html#01021)>. Acesso em: 05/07/07.

PEREIRA, A. M. S. Micropropagação de *Maytenus aquifolium* Mart. e *Maytenus ilicifolia* Mart. (espinheira-santa). In: MING *et al.* (Coord.). **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: UNESP, 1998. v. 2., p.19-32.

PIERCE, D. Commercial propagation methods for hazelnuts. **Annual Report Northern Nut Growers Association**, Ithaca, v. 82, p. 96-98, 1991.

RADOMSKI, M. I.; SCHEFFER, M. C. **Características fenotípicas de 44 progênes de *Maytenus ilicifolia* Mart. cultivadas no município de Ponta Grossa, PR**. Colombo: Embrapa, 2004. p. 1-6. (Circular Técnica, n. 86).

RELF, D.; BALL, E. Propagation by cuttings, layering and division. **Environmental horticulture**, Petersburg, v. 426, n. 2, 2001. Disponível em: <<http://www.ext.vt.edu/pubs/envirohort/426-002/426-002.pdf>>. Acesso em 08/06/06.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant physiology**. 4. ed. Belmont: Wadsworth, 1992. 682 p.

SCHEFFER, M. C.; DONI, L. F.; KOEHLER, H. S. Influência do tipo de coleta, das condições e do tempo de armazenagem na viabilidade de sementes de *Maytenus*

*ilicifolia*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 12., 1994, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza, 1994. p. 196.

SILVA, C. DE P. **Efeitos do ANA, ácido bórico, paclobutrazol e da época de coleta, no enraizamento de estacas caulinares de espinheira-santa (*Maytenus aquifolia* Mart.)**. 99 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas, Botânica) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1999.

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

SILVA JÚNIOR, A. A.; OSAIDA, C. C. Espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*) da flora ao medicamento. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 19, n. 3, p. 36-40, 2006.

VALLE, C. F.; FERREIRA, M.; CALDEIRA, C. J. **Estudo da propagação vegetativa, através de mergulhia de amontoa de *Eucalyptus urophylla***. Piracicaba, 1977. (Circular Técnica IPEF, n. 31) Disponível em: <<http://www.ipef.br/publicacoes/ctecnica/nr031.pdf>>. Acesso em: 15/06/07.

WESTWOOD, M. N. **Fruticultura de zonas templadas**. Madrid: Mundi-Prensa, 1982. 461 p.

WOOD, B. W. Clonal propagation of pecan by mound layering. **Hortscience**, Alexandria, v. 24, p. 260-262, 1989.

ZUFFELLATO-RIBAS; K. C.; RODRIGUES, J. D. **Estaquia: uma abordagem dos principais aspectos fisiológicos**. Curitiba, 2001. 39 p.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As Figuras 17 e 18 apresentam as médias da porcentagem de enraizamento de estacas semilenhosas provenientes de plantas matrizes adultas de espinheira-santa, em todos os tratamentos e nos dois modos de aplicação testados, aos 180 e aos 365 dias.

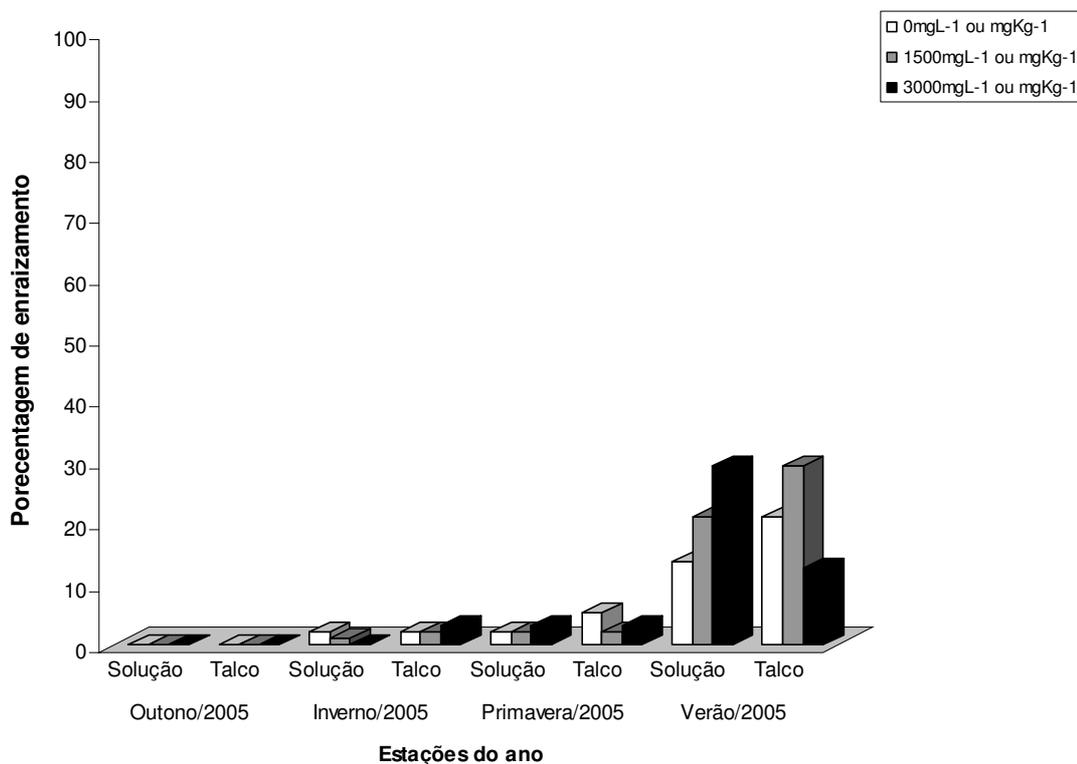


FIGURA 17 – Média da porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* enraizadas, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico nas quatro estações do ano, avaliadas aos 180 dias. UFPR, Curitiba – PR, 2005 e 2006.

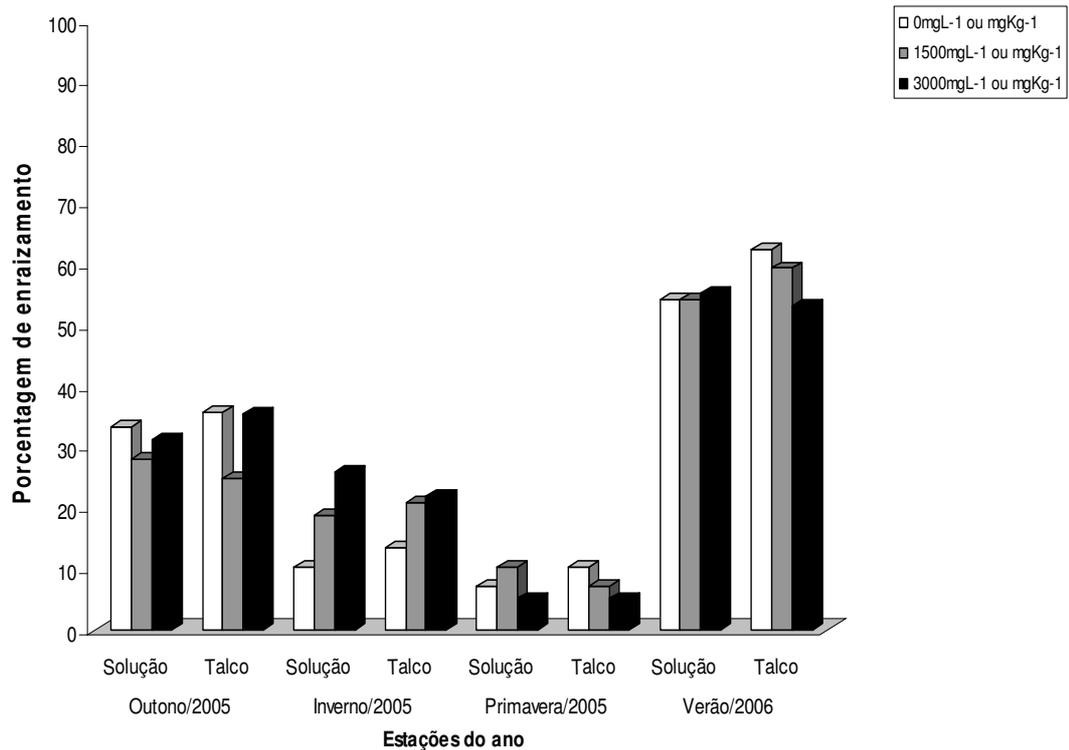


FIGURA 18 – Média da porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* enraizadas, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico nas quatro estações do ano, avaliadas aos 365 dias. UFPR, Curitiba – PR, 2005 a 2007.

Comparando-se os resultados obtidos, pode-se observar a baixa capacidade de emissão de raízes em todas as estações do ano, já na primeira avaliação. Ao fim do experimento verificou-se um aumento nos percentuais de enraizamento em todas as estações, principalmente no verão/2006 (Figura 19). Dentre os aspectos relacionados ao lento e/ou ausência de desenvolvimento de raízes ao longo deste experimento, pode-se destacar o uso de material vegetativo proveniente de plantas matrizes de seis anos de idade, características anatômicas do caule da espécie e a aplicação de regulador vegetal.

A utilização de material oriundo de plantas adultas não é adequada para o enraizamento, devido às alterações bioquímicas e fisiológicas decorrentes da perda da juvenildade, como a presença de menores teores de co-fatores do enraizamento e maiores teores de inibidores do enraizamento. Com relação às características anatômicas da espécie, vale ressaltar que os ramos possuem um anel esclerenquimático quase contínuo, composto de fibras e esclereides, que constitui uma barreira anatômica à emissão das raízes nas estacas. Ambos os aspectos podem ser confirmados ao observar as porcentagens de enraizamento obtidas no

verão/2006, cujas estacas, oriundas das mesmas plantas matrizes foram coletadas seis meses após a realização de poda. Estas estacas apresentavam-se menos lignificadas e com o anel esclerenquimático parcialmente formado por fibras dispersas aleatoriamente no córtex caulinar. Desse modo verificou-se a tendência de maiores porcentagens de enraizamento com o uso de material menos lignificado ou ainda de material rejuvenescido, sendo caracterizado o efeito da poda no enraizamento e não da estação do ano (verão).

Quanto à utilização de auxina neste experimento pôde-se verificar que as estacas semilenhosas não respondem a aplicação de IBA nas concentrações testadas em ambos os veículos utilizados. O lento ou difícil enraizamento da espécie não é solucionado pela aplicação exógena de auxina, e como houve formação de raízes na testemunha, é provável que as estacas possuam concentração endógena suficiente de auxina para promover o enraizamento.

A Figura 19 apresenta uma síntese para a comparação das taxas de enraizamento obtidas nas quatro estações do ano, nas duas avaliações realizadas.

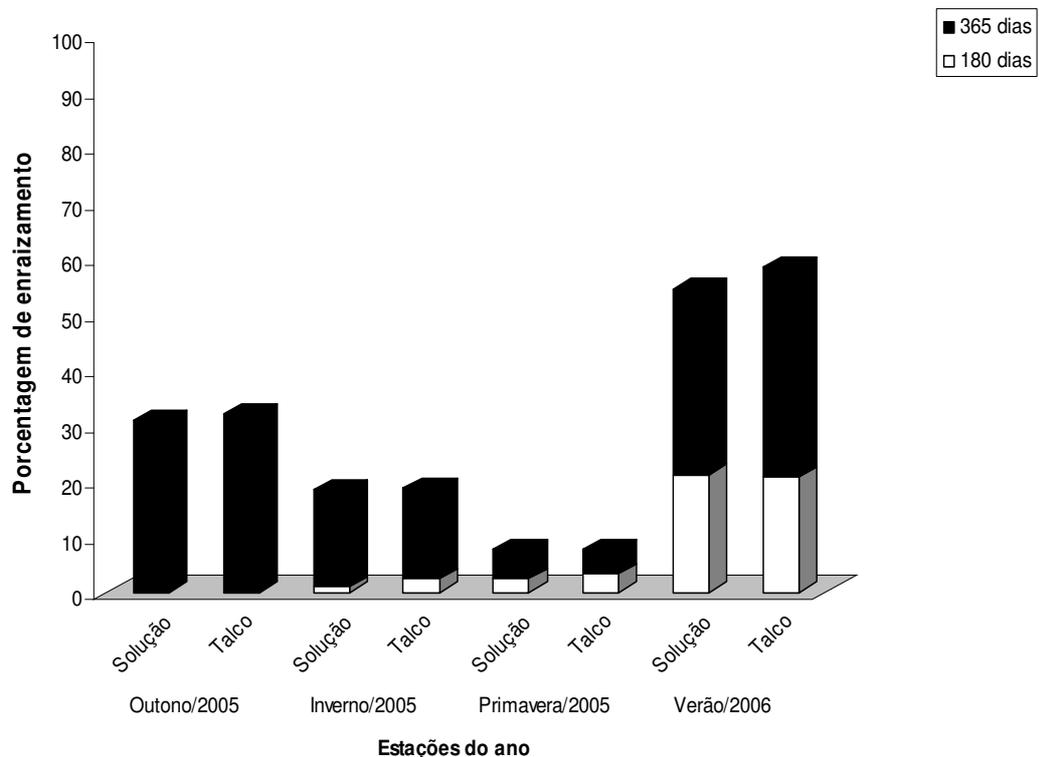


FIGURA 19 – Média da porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* enraizadas, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico nas quatro estações do ano, avaliadas aos 180 e aos 365 dias. UFPR, Curitiba – PR, 2005 a 2007.

A Figura 20 apresenta a comparação das taxas de mortalidade constatada nas quatro estações do ano, nas duas avaliações realizadas.

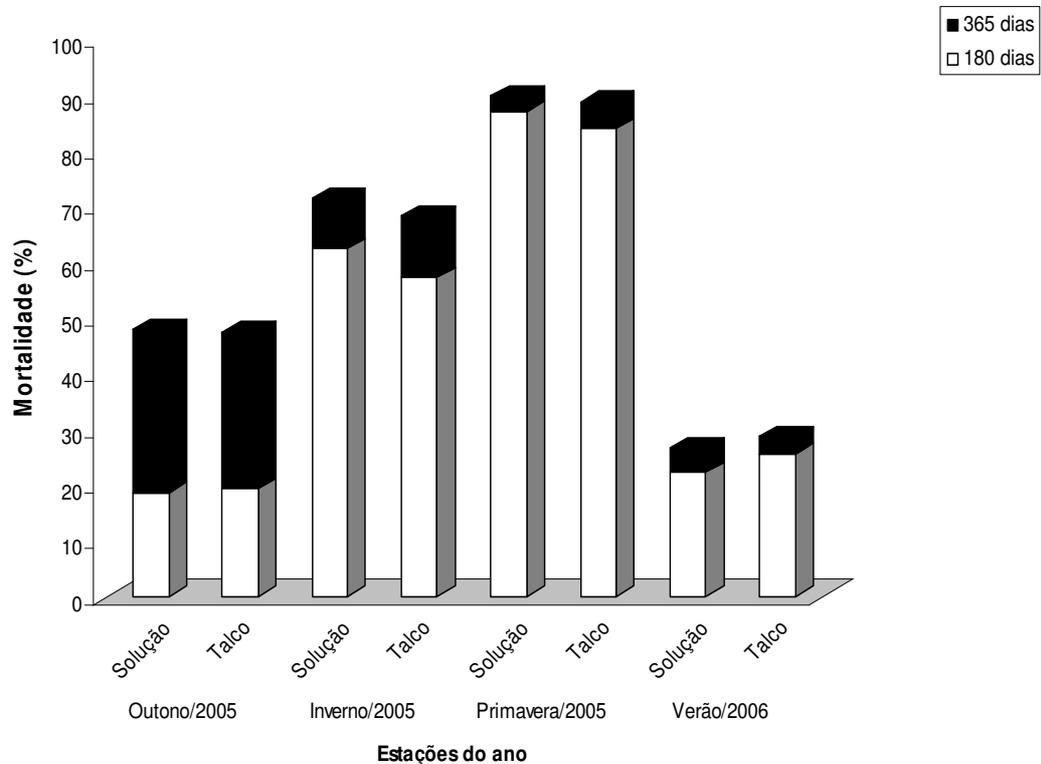


FIGURA 20 – Média geral da porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* mortas, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico nas quatro estações do ano, avaliadas aos 180 e aos 365 dias. UFPR, Curitiba – PR, 2005 a 2007.

O baixo percentual de enraizamento e a elevada mortalidade verificada em todas as estações do ano podem ter ocorrido pela abscisão foliar observada após a instalação do experimento. A retenção foliar é indispensável à formação de novas raízes, uma vez que as folhas são responsáveis pelo processo fotossintético, necessário ao metabolismo de substâncias (fotoassimilados, auxinas e vitaminas) translocadas para a base das estacas. Sendo assim, a perda precoce das folhas foi prejudicial ao enraizamento, não ocasionando a formação de raízes e conseqüentemente elevando a taxa de mortalidade.

A Figura 21 apresenta uma visão geral das médias de enraizamento obtidas no experimento de miniestaquia, realizado em quatro diferentes meses do ano. A Figura 22 apresenta a síntese das médias gerais de enraizamento para as técnicas de estaquia e de miniestaquia, nas quatro estações do ano.

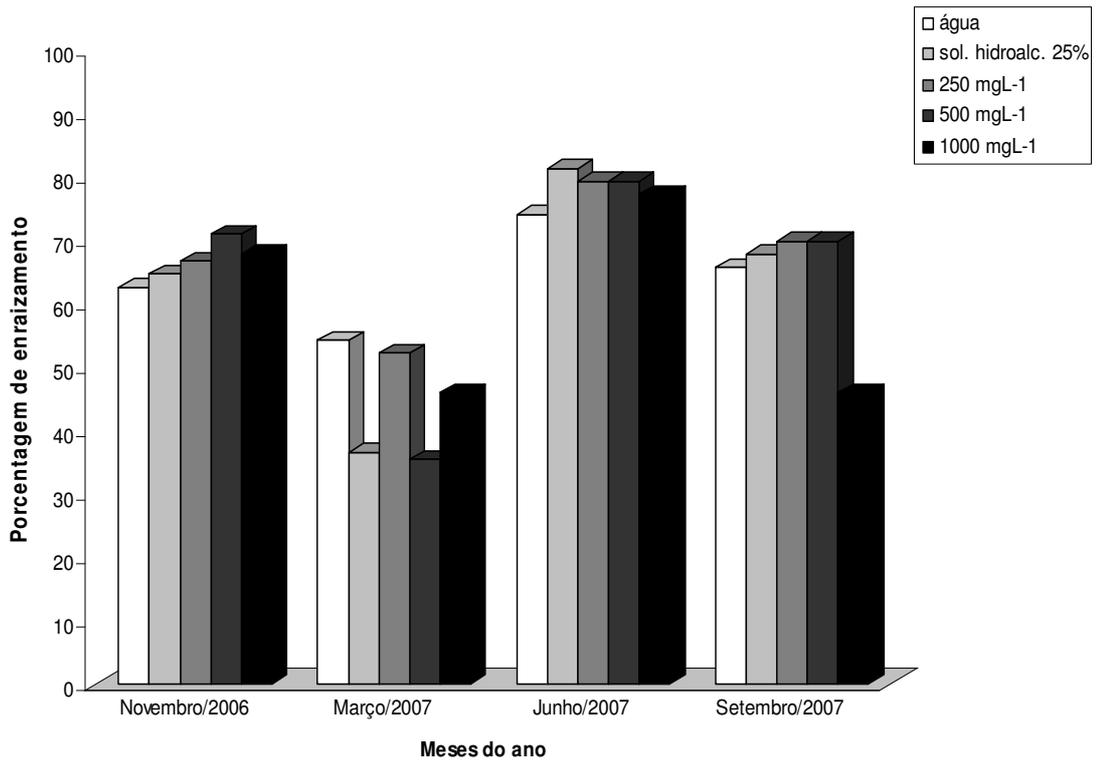


FIGURA 21 – Média da porcentagem de miniestacas de *M. enraizadas*, sob efeito de diferentes concentrações de ácido indol butírico nos quatro meses do ano. UFPR, Curitiba – PR, 2006 e 2007.

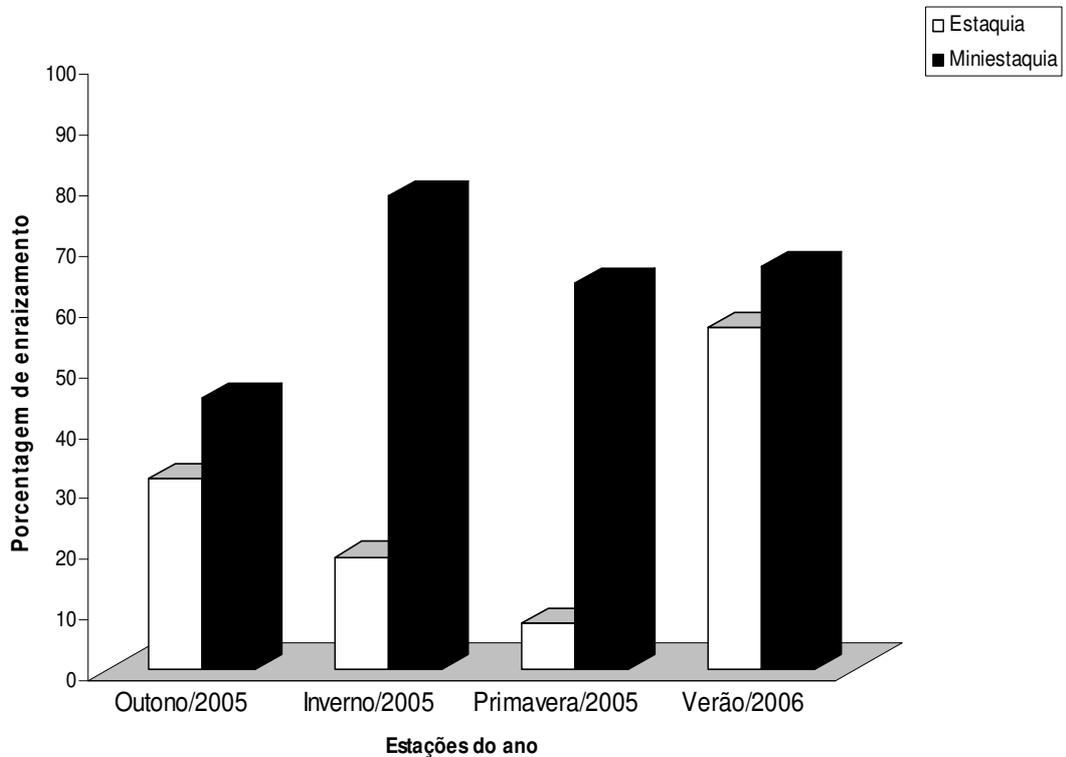


FIGURA 22 – Porcentagem geral de enraizamento de estacas semilenhosas e de miniestacas de *M. ilicifolia*, nas quatro estações do ano do ano. UFPR, Curitiba – PR, 2005 a 2007.

As maiores porcentagens de enraizamento foram obtidas com a utilização da miniestaquia, com bom desempenho em diferentes meses do ano. Quando comparada à estaquia com o uso de propágulos semilenhosos, a eficiência da miniestaquia para a produção de mudas torna-se evidente. Estes resultados indicam que o uso de material juvenil obtido de brotações provenientes de minicepas propagadas por semente favorece o enraizamento da espécie. Outro fator que deve ser ressaltado é a considerável redução do tempo de permanência das miniestacas no leito de enraizamento. Desse modo, é possível confirmar a viabilidade econômica da técnica de miniestaquia em relação à estaquia, principalmente por dispensar a utilização de regulador vegetal.

A Figura 23 reúne as médias gerais obtidas nas principais variáveis analisadas em todas as técnicas de propagação vegetativa testadas no presente trabalho, apresentando uma síntese comparativa dos experimentos. Os melhores resultados observados nas quatro técnicas bem como as principais características de cada uma delas são apresentados na Tabela 26.

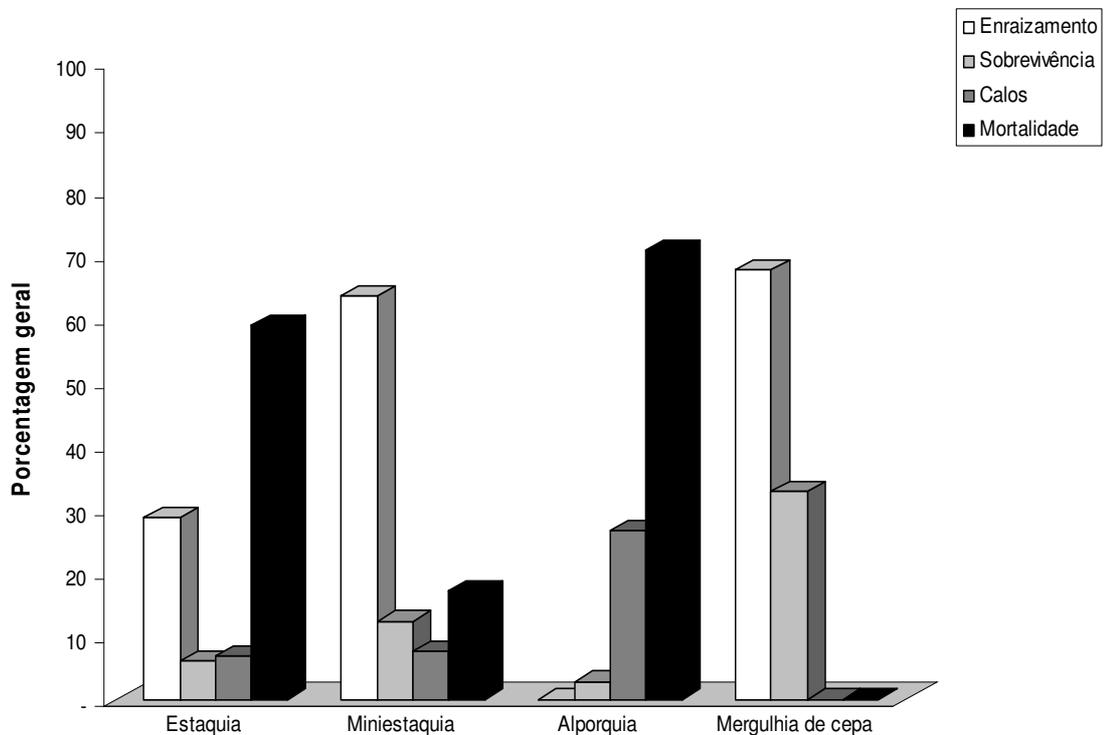


FIGURA 23 – Média geral da porcentagem de enraizamento, sobrevivência (vivas e calos) e mortalidade de estacas semilenhosas, miniestacas, alporques e brotações de cepa de *M. ilicifolia*. UFPR, Curitiba – PR, 2005 a 2007.

TABELA 26 - Comparação entre os melhores resultados obtidos com as técnicas de propagação vegetativa utilizadas para o enraizamento de espinheira-santa e suas principais características. UFPR, Curitiba – PR, 2005 a 2007.

| Técnicas          | Época (mês) | Tratamento (IBA) | Substrato utilizado                | Enraizamento (maior %) | Tempo de enraizamento (dias) |
|-------------------|-------------|------------------|------------------------------------|------------------------|------------------------------|
| Estaquia          | janeiro     | sem              | vermiculita                        | 62,50                  | 365                          |
| Miniestaquia      | junho       | sem              | Plantmax HT®                       | 81,25                  | 90                           |
| Alporquia         | janeiro     | sem              | vermiculita/fibra de casca de coco | 1,11                   | 365                          |
| Mergulhia de cepa | fevereiro   | sem              | solo                               | 67,31                  | 365                          |

De modo geral os resultados obtidos nesses experimentos confirmam que o material proveniente de plantas adultas não é favorável ao enraizamento, conforme observado para estacas e alporques da espécie (Figura 23). A alporquia é a técnica mais utilizada para espécies de difícil enraizamento, justamente pela vantagem da futura muda manter-se unida à planta matriz, o que favoreceria o enraizamento pelo constante suprimento de água, nutrientes e carboidratos. Contudo, neste trabalho foi a técnica menos promissora para o enraizamento da espécie.

Comparando-se as outras duas técnicas, é possível constatar que tanto a miniestaquia quanto a mergulhia de cepa apresentaram melhor desempenho em relação às primeiras. A juvenilidade do material vegetativo foi suficiente para induzir a formação de raízes em ambas as técnicas; entretanto, o tempo de formação de mudas por meio da miniestaquia foi de três meses, enquanto que para a mergulhia de cepa foi de 12 meses.

A mergulhia de cepa é uma técnica trabalhosa, considerada de baixo custo, por não necessitar de infra-estrutura, mas com a exigência de mão de obra para sua realização. Devido aos resultados de enraizamento obtidos por meio desta técnica, novos estudos devem ser realizados para confirmação dos mesmos, para melhor conhecimento e aprimoramento dessa, uma vez que esta pode ser considerada uma ferramenta para os produtores na propagação da espécie. Em se tratando ainda de uma planta medicinal, a técnica é apresentada como uma opção viável para o resgate de genótipos selecionados de plantas adultas com os teores adequados de metabólitos secundários.

Desse modo, dentre as técnicas estudadas a miniestaquia é a mais promissora para a propagação de espinheira-santa, pela produção de propágulos juvenis com maior potencialidade de enraizamento, produção de mudas em menor

período de tempo e, principalmente, por não haver necessidade de aplicação de regulador vegetal, reforçando assim sua viabilidade técnica e econômica.

Além disso, em relação às mudas oriundas de sementes, que apresentam variabilidade genética, a miniestaquia apresenta a vantagem de vir a ser uma técnica utilizada para a clonagem de propágulos selecionados com relação à produção de metabólitos secundários, de grande interesse na área de farmacologia e na indústria farmacêutica.

Sendo assim, quando comparada às outras técnicas estudadas e diante de todas as vantagens apresentadas anteriormente, recomenda-se a utilização da miniestaquia para a propagação vegetativa de espinheira-santa.

A técnica necessita de aprimoramento e, portanto, são necessários novos estudos com relação à nutrição das minicepas e substratos, visando aumento da produtividade e redução da mortalidade das mesmas. Quanto ao enraizamento das miniestacas, novos experimentos com substratos e em outros meses do ano podem ser realizados.

## 7 CONCLUSÕES GERAIS

Nas condições em que foram realizados os experimentos com espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek), é possível concluir que:

Estacas semilenhosas obtidas de plantas matrizes de 6 anos de idade apresentaram baixa capacidade de enraizamento, mesmo com a utilização de ácido indol butírico até a concentração de 3000 mgL<sup>-1</sup> ou mgkg<sup>-1</sup>. A espécie pode ser considerada de lento enraizamento, devendo o período de permanência das estacas no leito de enraizamento ser de 180 a 365 dias.

Miniestacas provenientes de material juvenil obtido de minicepas originadas de semente apresentaram maior capacidade de enraizamento adventício, sem a necessidade de utilização de ácido indol butírico.

Os alporques realizados em duas épocas do ano não apresentaram enraizamento com o uso de ácido indol butírico nos substratos testados. A alporquia não é uma técnica eficiente para a produção de mudas de espinheira-santa.

As brotações de cepa submetidas à mergulhia mostraram-se favoráveis ao enraizamento adventício, sendo essa técnica considerada viável como técnica para o resgate de genótipos selecionados de planta adultas de espinheira-santa.

A juvenilidade é fator determinante para a propagação vegetativa da espinheira-santa.

**ANEXOS**

ANEXO 1 – Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* com calos, vivas e mortas, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no outono de 2005 e avaliadas aos 180 dias após a instalação do experimento.

| Fator de variação              | Graus de liberdade | QUADRADO MÉDIO                   |                              |                               |
|--------------------------------|--------------------|----------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
|                                |                    | Porcentagem de estacas com calos | Porcentagem de estacas vivas | Porcentagem de estacas mortas |
| Modo de aplicação              | 1                  | 88,167**                         | 126,042**                    | 3,375 <sup>ns</sup>           |
| Concentração                   | 2                  | 17,167**                         | 133,042**                    | 175,292**                     |
| Modo x Concentração            | 2                  | 67,167**                         | 74,292**                     | 0,875 <sup>ns</sup>           |
| Erro                           | 18                 | 0,682                            | 1,471                        | 1,166                         |
| Total                          | 23                 |                                  |                              |                               |
| Coeficiente de variação (%)    |                    | 17,70                            | 1,59                         | 5,67                          |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                    | 2,817 <sup>ns</sup>              | 1,753 <sup>ns</sup>          | 2,624 <sup>ns</sup>           |

\*\* significativo a 1% de probabilidade

\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade

ANEXO 2 – Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* enraizadas, número médio de raízes formadas por estaca e comprimento médio das três maiores raízes, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no inverno de 2005 e avaliadas aos 180 dias após a instalação do experimento.

| Fator de variação              | Graus de liberdade | QUADRADO MÉDIO                    |                        |  |
|--------------------------------|--------------------|-----------------------------------|------------------------|--|
|                                |                    | Porcentagem de estacas enraizadas | Número médio de raízes | Comprimento das três maiores raízes (cm) |
| Modo de aplicação              | 1                  | 11,579**                          | 6,000**                | 3,096*                                   |
| Concentração                   | 2                  | 0,725 <sup>ns</sup>               | 0,125 <sup>ns</sup>    | 0,180 <sup>ns</sup>                      |
| Modo x Concentração            | 2                  | 5,058**                           | 0,875 <sup>ns</sup>    | 0,285 <sup>ns</sup>                      |
| Erro                           | 18                 | 0,432                             | 0,489                  | 0,394                                    |
| Total                          | 23                 |                                   |                        |  |
| Coeficiente de variação (%)    |                    | 37,87                             | 93,23                  | 141,76                                   |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                    | 7,912 <sup>ns</sup>               | 8,694 <sup>ns</sup>    | 12,052*                                  |

\*\* significativo a 1% de probabilidade

\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade

ANEXO 3 – Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* com calos, vivas e mortas, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no inverno de 2005 e avaliadas aos 180 dias após a instalação do experimento.

| Fator de variação              | Graus de liberdade | QUADRADO MÉDIO                   |                              |                               |
|--------------------------------|--------------------|----------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
|                                |                    | Porcentagem de estacas com calos | Porcentagem de estacas vivas | Porcentagem de estacas mortas |
| Modo de aplicação              | 1                  | 26,063**                         | 17,992**                     | 162,813**                     |
| Concentração                   | 2                  | 26,756**                         | 26,000**                     | 6,516 <sup>ns</sup>           |
| Modo x Concentração            | 2                  | 2,174**                          | 141,450**                    | 84,547**                      |
| Erro                           | 18                 | 0,107                            | 1,582                        | 2,200                         |
| Total                          | 23                 |                                  |                              |                               |
| Coeficiente de variação (%)    |                    | 9,40                             | 3,60                         | 2,48                          |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                    | 9,228 <sup>ns</sup>              | 1,269 <sup>ns</sup>          | 1,839 <sup>ns</sup>           |

\*\* significativo a 1% de probabilidade

\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade

ANEXO 4 – Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* enraizadas, número médio de raízes formadas por estaca e comprimento médio das três maiores raízes para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas na primavera de 2005 e avaliadas aos 180 dias após a instalação do experimento.

| Fator de variação              | Graus de liberdade | QUADRADO MÉDIO                    |                        |  |
|--------------------------------|--------------------|-----------------------------------|------------------------|--|
|                                |                    | Porcentagem de estacas enraizadas | Número médio de raízes | Comprimento das três maiores raízes (cm) |
| Modo de aplicação              | 1                  | 6,510**                           | 11,344**               | 0,807**                                  |
| Concentração                   | 2                  | 5,061**                           | 2,510**                | 5,418**                                  |
| Modo x Concentração            | 2                  | 6,510**                           | 10,531**               | 6,081**                                  |
| Erro                           | 18                 | 0,023                             | 0,037                  | 0,027                                    |
| Total                          | 23                 |                                   |                        |  |
| Coeficiente de variação (%)    |                    | 5,11                              | 10,08                  | 10,60                                    |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                    | 1,908 <sup>ns</sup>               | 7,276 <sup>ns</sup>    | 7,160 <sup>ns</sup>                      |

\*\* significativo a 1% de probabilidade

\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade

ANEXO 5 – Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* com calos, vivas e mortas, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas na primavera de 2005 e avaliadas aos 180 dias após a instalação do experimento.

| Fator de variação              | Graus de liberdade | QUADRADO MÉDIO                   |                              |                               |
|--------------------------------|--------------------|----------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
|                                |                    | Porcentagem de estacas com calos | Porcentagem de estacas vivas | Porcentagem de estacas mortas |
| Modo de aplicação              | 1                  | 0,725 <sup>ns</sup>              | 11,579**                     | 58,625**                      |
| Concentração                   | 2                  | 6,516**                          | 78,813**                     | 72,315**                      |
| Modo x Concentração            | 2                  | 18,087**                         | 13,737**                     | 8,674*                        |
| Erro                           | 18                 | 0,751                            | 0,743                        | 1,512                         |
| Total                          | 23                 |                                  |                              |                               |
| Coeficiente de variação (%)    |                    | 55,47                            | 8,56                         | 1,44                          |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                    | 8,710 <sup>ns</sup>              | 1,577 <sup>ns</sup>          | 4,311 <sup>ns</sup>           |

\*\* significativo a 1% de probabilidade

\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade

ANEXO 6 – Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* enraizadas, número médio de raízes formadas por estaca e comprimento médio das três maiores raízes, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no verão de 2006 e avaliadas aos 180 dias após a instalação do experimento.

| Fator de variação              | Graus de liberdade | QUADRADO MÉDIO                    |                        |  |
|--------------------------------|--------------------|-----------------------------------|------------------------|--|
|                                |                    | Porcentagem de estacas enraizadas | Número médio de raízes | Comprimento das três maiores raízes (cm) |
| Modo de aplicação              | 1                  | 0,735 <sup>ns</sup>               | 0,238**                | 0,992**                                  |
| Concentração                   | 2                  | 122,136**                         | 1,895**                | 0,042 <sup>ns</sup>                      |
| Modo x Concentração            | 2                  | 399,935**                         | 0,104*                 | 0,631*                                   |
| Erro                           | 18                 | 1,224                             | 0,024                  | 0,105                                    |
| Total                          | 23                 |                                   |                        |  |
| Coeficiente de variação (%)    |                    | 5,27                              | 4,37                   | 19,42                                    |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                    | 3,995 <sup>ns</sup>               | 3,509 <sup>ns</sup>    | 8,121 <sup>ns</sup>                      |

\*\* significativo a 1% de probabilidade

\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade

ANEXO 7 – Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* com calos, vivas e mortas, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no verão de 2006 e avaliadas aos 180 dias após a instalação do experimento.

| Fator de variação              | Graus de liberdade | QUADRADO MÉDIO                   |                              |                               |
|--------------------------------|--------------------|----------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
|                                |                    | Porcentagem de estacas com calos | Porcentagem de estacas vivas | Porcentagem de estacas mortas |
| Modo de aplicação              | 1                  | 141,815**                        | 393,336**                    | 72,384**                      |
| Concentração                   | 2                  | 96,226**                         | 64,922**                     | 8,684*                        |
| Modo x Concentração            | 2                  | 78,817**                         | 50,084**                     | 81,016**                      |
| Erro                           | 18                 | 4,903                            | 1,614                        | 1,969                         |
| Total                          | 23                 |                                  |                              |                               |
| Coeficiente de variação (%)    |                    | 9,11                             | 4,13                         | 5,86                          |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                    | 9,192 <sup>ns</sup>              | 1,514 <sup>ns</sup>          | 4,715 <sup>ns</sup>           |

\*\* significativo a 1% de probabilidade

\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade

ANEXO 8 – Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* enraizadas, número médio de raízes formadas por estaca e comprimento médio das três maiores raízes, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no outono de 2005 e avaliadas aos 365 dias após a instalação do experimento.

| Fator de variação              | Graus de liberdade | QUADRADO MÉDIO                    |                        |  |
|--------------------------------|--------------------|-----------------------------------|------------------------|--|
|                                |                    | Porcentagem de estacas enraizadas | Número médio de raízes | Comprimento das três maiores raízes (cm) |
| Modo de aplicação              | 1                  | 7,616 <sup>ns</sup>               | 0,143 <sup>ns</sup>    | 0,770 <sup>ns</sup>                      |
| Concentração                   | 2                  | 146,903**                         | 4,948 <sup>ns</sup>    | 0,349 <sup>ns</sup>                      |
| Modo x Concentração            | 2                  | 28,762**                          | 8,663 <sup>ns</sup>    | 0,340 <sup>ns</sup>                      |
| Erro                           | 18                 | 4,587                             | 2,712                  | 0,593                                    |
| Total                          | 23                 |                                   |                        |  |
| Coeficiente de variação (%)    |                    | 6,81                              | 33,78                  | 19,91                                    |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                    | 5,145 <sup>ns</sup>               | 5,416 <sup>ns</sup>    | 6,982 <sup>ns</sup>                      |

\*\* significativo a 1% de probabilidade

\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade

ANEXO 9 – Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* com calos, vivas e mortas, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no outono de 2005 e avaliadas aos 365 dias após a instalação do experimento.

| Fator de variação              | Graus de liberdade | QUADRADO MÉDIO                   |                              |                               |
|--------------------------------|--------------------|----------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
|                                |                    | Porcentagem de estacas com calos | Porcentagem de estacas vivas | Porcentagem de estacas mortas |
| Modo de aplicação              | 1                  | 11,579*                          | 26,083**                     | 0,725 <sup>ns</sup>           |
| Concentração                   | 2                  | 6,521 <sup>ns</sup>              | 34,694**                     | 265,440**                     |
| Modo x Concentração            | 2                  | 31,110**                         | 8,694*                       | 26,787 <sup>ns</sup>          |
| Erro                           | 18                 | 2,556                            | 2,091                        | 12,777                        |
| Total                          | 23                 |                                  |                              |                               |
| Coeficiente de variação (%)    |                    | 11,81                            | 19,83                        | 7,49                          |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                    | 2,856 <sup>ns</sup>              | 2,492 <sup>ns</sup>          | 3,165 <sup>ns</sup>           |

\*\* significativo a 1% de probabilidade

\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade

ANEXO 10 – Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* enraizadas, número médio de raízes formadas por estaca e comprimento médio das três maiores raízes, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no inverno de 2005 e avaliadas aos 365 dias após a instalação do experimento.

| Fator de variação              | Graus de liberdade | QUADRADO MÉDIO                    |                        |  |
|--------------------------------|--------------------|-----------------------------------|------------------------|--|
|                                |                    | Porcentagem de estacas enraizadas | Número médio de raízes | Comprimento das três maiores raízes (cm) |
| Modo de aplicação              | 1                  | 0,735 <sup>ns</sup>               | 10,800**               | 0,282 <sup>ns</sup>                      |
| Concentração                   | 2                  | 295,910**                         | 3,696*                 | 0,146 <sup>ns</sup>                      |
| Modo x Concentração            | 2                  | 31,087 <sup>ns</sup>              | 6,980**                | 0,874 <sup>ns</sup>                      |
| Erro                           | 18                 | 9,826                             | 0,675                  | 1,941                                    |
| Total                          | 23                 |                                   |                        |  |
| Coeficiente de variação (%)    |                    | 16,87                             | 18,53                  | 32,04                                    |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                    | 3,237 <sup>ns</sup>               | 2,373 <sup>ns</sup>    | 5,488 <sup>ns</sup>                      |

\*\* significativo a 1% de probabilidade

\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade

ANEXO 11 – Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* com calos, vivas e mortas, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no inverno de 2005 e avaliadas aos 365 dias após a instalação do experimento.

| Fator de variação              | Graus de liberdade | QUADRADO MÉDIO                   |                              |                               |
|--------------------------------|--------------------|----------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
|                                |                    | Porcentagem de estacas com calos | Porcentagem de estacas vivas | Porcentagem de estacas mortas |
| Modo de aplicação              | 1                  | 11,551 <sup>ns</sup>             | 11,565 <sup>ns</sup>         | 58,625 <sup>ns</sup>          |
| Concentração                   | 2                  | 20,256*                          | 57,150**                     | 26,773 <sup>ns</sup>          |
| Modo x Concentração            | 2                  | 2,898 <sup>ns</sup>              | 96,164**                     | 210,528**                     |
| Erro                           | 18                 | 4,542                            | 3,071                        | 1,969                         |
| Total                          | 23                 |                                  |                              |                               |
| Coeficiente de variação (%)    |                    | 38,36                            | 29,69                        | 7,50                          |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                    | 1,877 <sup>ns</sup>              | 3,471 <sup>ns</sup>          | 3,810 <sup>ns</sup>           |

\*\* significativo a 1% de probabilidade

\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade

ANEXO 12 – Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* enraizadas, número médio de raízes formadas por estaca e comprimento médio das três maiores raízes, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas na primavera de 2005 e avaliadas aos 365 dias após a instalação do experimento.

| Fator de variação              | Graus de liberdade | QUADRADO MÉDIO                    |                        |  |
|--------------------------------|--------------------|-----------------------------------|------------------------|--|
|                                |                    | Porcentagem de estacas enraizadas | Número médio de raízes | Comprimento das três maiores raízes (cm) |
| Modo de aplicação              | 1                  | 0,000 <sup>ns</sup>               | 0,113 <sup>ns</sup>    | 0,028 <sup>ns</sup>                      |
| Concentração                   | 2                  | 35,466**                          | 1,685*                 | 4,534**                                  |
| Modo x Concentração            | 2                  | 19,516*                           | 4,536**                | 0,556 <sup>ns</sup>                      |
| Erro                           | 18                 | 4,361                             | 0,284                  | 0,279                                    |
| Total                          | 23                 |                                   |                        |  |
| Coeficiente de variação (%)    |                    | 27,34                             | 22,04                  | 23,99                                    |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                    | 1,505 <sup>ns</sup>               | 2,693 <sup>ns</sup>    | 4,085 <sup>ns</sup>                      |

\*\* significativo a 1% de probabilidade

\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade

ANEXO 13 – Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* com calos, vivas e mortas, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas na primavera de 2005 e avaliadas aos 365 dias após a instalação do experimento.

| Fator de variação              | Graus de liberdade | QUADRADO MÉDIO                   |                              |                               |
|--------------------------------|--------------------|----------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
|                                |                    | Porcentagem de estacas com calos | Porcentagem de estacas vivas | Porcentagem de estacas mortas |
| Modo de aplicação              | 1                  | 3,075**                          | 0,183*                       | 6,490 <sup>ns</sup>           |
| Concentração                   | 2                  | 0,553 <sup>ns</sup>              | 1,497**                      | 54,936 <sup>ns</sup>          |
| Modo x Concentração            | 2                  | 0,312 <sup>ns</sup>              | 0,535**                      | 26,021 <sup>ns</sup>          |
| Erro                           | 18                 | 0,239                            | 0,024                        | 73,524                        |
| Total                          | 23                 |                                  |                              |                               |
| Coeficiente de variação (%)    |                    | 37,48                            | 9,43                         | 9,59                          |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                    | 25,654*                          | 24,044*                      | 1,579 <sup>ns</sup>           |

\*\* significativo a 1% de probabilidade

\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade

ANEXO 14 – Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* enraizadas, número médio de raízes formadas por estaca e comprimento médio das três maiores raízes, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no verão de 2006 e avaliadas aos 365 dias após a instalação do experimento.

| Fator de variação              | Graus de liberdade | QUADRADO MÉDIO                    |                        |  |
|--------------------------------|--------------------|-----------------------------------|------------------------|--|
|                                |                    | Porcentagem de estacas enraizadas | Número médio de raízes | Comprimento das três maiores raízes (cm) |
| Modo de aplicação              | 1                  | 87,554**                          | 0,066 <sup>ns</sup>    | 0,383 <sup>ns</sup>                      |
| Concentração                   | 2                  | 35,422 <sup>ns</sup>              | 0,033 <sup>ns</sup>    | 0,120 <sup>ns</sup>                      |
| Modo x Concentração            | 2                  | 57,082*                           | 0,988 <sup>ns</sup>    | 0,293 <sup>ns</sup>                      |
| Erro                           | 18                 | 15,772                            | 0,703                  | 0,353                                    |
| Total                          | 23                 |                                   |                        |  |
| Coeficiente de variação (%)    |                    | 7,04                              | 12,18                  | 12,66                                    |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                    | 2,140 <sup>ns</sup>               | 1,350 <sup>ns</sup>    | 3,205 <sup>ns</sup>                      |

\*\* significativo a 1% de probabilidade

\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade

ANEXO 15 – Resultados da análise de variância para a porcentagem de estacas de *M. ilicifolia* com calos, vivas e mortas, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e modo de aplicação de IBA em solução e em talco, coletadas no verão de 2006 e avaliadas aos 365 dias após a instalação do experimento.

| Fator de variação              | Graus de liberdade | QUADRADO MÉDIO                   |                              |                               |
|--------------------------------|--------------------|----------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
|                                |                    | Porcentagem de estacas com calos | Porcentagem de estacas vivas | Porcentagem de estacas mortas |
| Modo de aplicação              | 1                  | 6,479 <sup>ns</sup>              | 141,718**                    | 26,000 <sup>ns</sup>          |
| Concentração                   | 2                  | 60,736**                         | 22,390*                      | 5,047 <sup>ns</sup>           |
| Modo x Concentração            | 2                  | 60,819**                         | 52,751**                     | 45,573*                       |
| Erro                           | 18                 | 3,441                            | 4,456                        | 8,815                         |
| Total                          | 23                 |                                  |                              |                               |
| Coeficiente de variação (%)    |                    | 27,40                            | 23,38                        | 10,69                         |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                    | 1,734 <sup>ns</sup>              | 4,879 <sup>ns</sup>          | 1,582 <sup>ns</sup>           |

\*\* significativo a 1% de probabilidade

\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade

ANEXO 16 – Resultados da análise de variância para a porcentagem de miniestacas de *M. ilicifolia* enraizadas, número médio de raízes formadas por miniestaca e comprimento médio das três maiores raízes, para diferentes concentrações de IBA (água, 0, 250, 500 e 1000 mgL<sup>-1</sup>) e meses de coleta (novembro/2006, março, junho e setembro/2007), avaliadas aos 90 dias após a instalação do experimento.

| Fator de variação              | Graus de liberdade | QUADRADO MÉDIO                        |                        |  |
|--------------------------------|--------------------|---------------------------------------|------------------------|--|
|                                |                    | Porcentagem de miniestacas enraizadas | Número médio de raízes | Comprimento das três maiores raízes (cm) |
| Concentração                   | 4                  | 128,579**                             | 1,696*                 | 0,006 <sup>ns</sup>                      |
| Meses                          | 3                  | 3816,834**                            | 59,491**               | 1,053**                                  |
| Concentração x Meses           | 12                 | 218,103**                             | 1,618**                | 0,015 <sup>ns</sup>                      |
| Erro                           | 60                 | 6,377                                 | 0,486                  | 0,011                                    |
| Total                          | 79                 |                                       |                        |  |
| Coeficiente de variação (%)    |                    | 3,99                                  | 11,35                  | 5,33                                     |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                    | 25,817 <sup>ns</sup>                  | 14,111 <sup>ns</sup>   | 22,803 <sup>ns</sup>                     |

\*\* significativo a 1% de probabilidade

\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade

ANEXO 17 – Resultados da análise de variância para a porcentagem de miniestacas de *M. ilicifolia* com calos, vivas e mortas, para diferentes concentrações de IBA (água, 0, 250, 500 e 1000 mgL<sup>-1</sup>) e meses de coleta (novembro/2006, março, junho e setembro/2007), avaliadas aos 90 dias após a instalação do experimento.

| Fator de variação              | Graus de liberdade | QUADRADO MÉDIO                       |                                  |                                   |
|--------------------------------|--------------------|--------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
|                                |                    | Porcentagem de miniestacas com calos | Porcentagem de miniestacas vivas | Porcentagem de miniestacas mortas |
| Concentração                   | 4                  | 30,301                               | 14,876**                         | 194,842**                         |
| Meses                          | 3                  | 169,579                              | 101,264**                        | 2438,940**                        |
| Concentração x Meses           | 12                 | 34,148                               | 78,664**                         | 84,797**                          |
| Erro                           | 60                 | 19,689                               | 2,709                            | 2,542                             |
| Total                          | 79                 |                                      |                                  |                                   |
| Coeficiente de variação (%)    |                    | 59,17                                | 13,39                            | 9,42                              |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                    | 37,133*                              | 12,771 <sup>ns</sup>             | 27,418 <sup>ns</sup>              |

\*\* significativo a 1% de probabilidade

\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade

ANEXO 18 – Resultados da análise de variância para a porcentagem de alporques de *M. ilicifolia* com calos, vivos e mortos, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e substratos fibra de casca de coco, vermiculita e esfagno, confeccionados no outono de 2005 e avaliados aos 365 dias após a instalação do experimento.

| Fator de variação              | Graus de liberdade | QUADRADO MÉDIO                   |                              |                               |
|--------------------------------|--------------------|----------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
|                                |                    | Porcentagem de estacas com calos | Porcentagem de estacas vivas | Porcentagem de estacas mortas |
| Concentração                   | 2                  | 258,333*                         | 19,444 <sup>ns</sup>         | 302,778 <sup>ns</sup>         |
| Substrato                      | 2                  | 3908,333**                       | 277,778**                    | 4436,111**                    |
| Concentração x Substrato       | 4                  | 66,667 <sup>ns</sup>             | 11,111 <sup>ns</sup>         | 77,778 <sup>ns</sup>          |
| Erro                           | 27                 | 62,407                           | 8,463                        | 127,074                       |
| Total                          | 35                 |                                  |                              |                               |
| Coeficiente de variação (%)    |                    | 24,31                            | 65,46                        | 17,88                         |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                    | 4,999 <sup>ns</sup>              | 18,229*                      | 3,557 <sup>ns</sup>           |

\*\* significativo a 1% de probabilidade

\* significativo a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade

ANEXO 19 – Resultados da análise de variância para a porcentagem de alporques de *M. ilicifolia* com calos, vivos e mortos, para diferentes concentrações de IBA (0, 1500 e 3000 mgL<sup>-1</sup>) e substratos fibra de casca de coco, vermiculita e esfagno, confeccionados no verão de 2006 e avaliados aos 365 dias após a instalação do experimento.

| Fator de variação              | Graus de liberdade | QUADRADO MÉDIO                   |                              |                               |
|--------------------------------|--------------------|----------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
|                                |                    | Porcentagem de estacas com calos | Porcentagem de estacas vivas | Porcentagem de estacas mortas |
| Concentração                   | 2                  | 86,111 <sup>ns</sup>             | 2,778 <sup>ns</sup>          | 69,444 <sup>ns</sup>          |
| Substrato                      | 2                  | 836,11 <sup>**</sup>             | 19,444 <sup>**</sup>         | 1219,444 <sup>**</sup>        |
| Concentração x Substrato       | 4                  | 256,944 <sup>**</sup>            | 2,778 <sup>ns</sup>          | 236,111 <sup>*</sup>          |
| Erro                           | 27                 | 56,556                           | 1,741                        | 85,185                        |
| Total                          | 35                 |                                  |                              |                               |
| Coeficiente de variação (%)    |                    | 37,09                            | 118,74                       | 11,87                         |
| Teste de Bartlett ( $\chi^2$ ) |                    | 6,238 <sup>ns</sup>              | 1,789 <sup>ns</sup>          | 3,102 <sup>ns</sup>           |

\*\* significativo a 1% de probabilidade

\* significativo a 5% de probabilidade

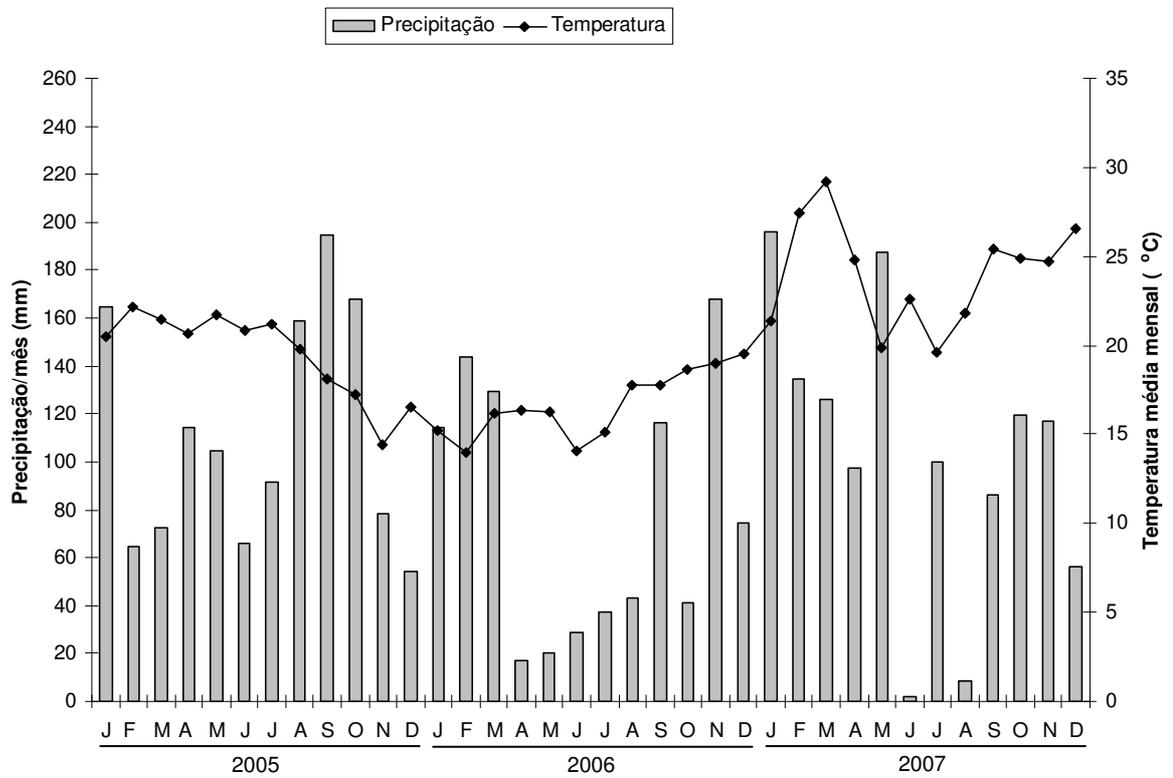
<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade

ANEXO 20 - Precipitação mensal, temperaturas médias, média das mínimas e média das máximas no período de janeiro de 2005 a dezembro de 2007, registradas pela estação meteorológica de Curitiba e fornecidas pelo SIMEPAR, 2008.

| Mês/ano  | Precipitação (mm) | Temperatura (°C) |                   |                   |
|----------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|
|          |                   | Média            | Média das mínimas | Média das máximas |
| Jan/2005 | 164,6             | 20,5             | 17,0              | 25,5              |
| Fev/2005 | 64,8              | 22,2             | 17,1              | 26,5              |
| Mar/2005 | 72,8              | 21,5             | 17,0              | 29,0              |
| Abr/2005 | 114,4             | 20,7             | 16,3              | 25,1              |
| Mai/2005 | 104,8             | 21,7             | 13,1              | 22,7              |
| Jun/2005 | 66,2              | 20,8             | 13,0              | 21,6              |
| Jul/2005 | 91,2              | 21,2             | 9,4               | 19,8              |
| Ago/2005 | 158,8             | 19,8             | 11,0              | 22,6              |
| Set/2005 | 195,0             | 18,1             | 11,0              | 18,6              |
| Out/2005 | 168,2             | 17,2             | 14,7              | 22,9              |
| Nov/2005 | 78,4              | 14,4             | 14,3              | 24,8              |
| Dez/2005 | 54,0              | 16,5             | 15,2              | 25,7              |
| Jan/2006 | 114,2             | 15,2             | 17,5              | 28,8              |
| Fev/2006 | 143,6             | 14,0             | 17,7              | 28,0              |
| Mar/2006 | 129,6             | 16,2             | 17,6              | 27,0              |
| Abr/2006 | 17,0              | 16,4             | 14,0              | 23,9              |
| Mai/2006 | 20,0              | 16,3             | 10,0              | 20,2              |
| Jun/2006 | 28,8              | 14,1             | 11,3              | 20,7              |
| Jul/2006 | 37,4              | 15,1             | 10,7              | 22,5              |
| Ago/2006 | 42,8              | 17,8             | 11,1              | 22,2              |
| Set/2006 | 116,0             | 17,8             | 11,0              | 20,9              |
| Out/2006 | 41,0              | 18,6             | 14,0              | 23,7              |
| Nov/2006 | 168,2             | 19,0             | 14,5              | 24,1              |
| Dez/2006 | 74,2              | 19,5             | 16,4              | 26,7              |
| Jan/2007 | 196,0             | 21,4             | 17,0              | 26,9              |
| Fev/2007 | 134,8             | 21,9             | 18,1              | 27,4              |
| Mar/2007 | 126,0             | 23,0             | 18,6              | 29,2              |
| Abr/2007 | 97,6              | 19,8             | 16,5              | 24,8              |
| Mai/2007 | 187,4             | 15,6             | 11,6              | 19,9              |
| Jun/2007 | 2,0               | 16,5             | 11,4              | 22,6              |
| Jul/2007 | 100,0             | 13,8             | 8,7               | 19,6              |
| Ago/2007 | 8,6               | 15,7             | 11,0              | 21,8              |
| Set/2007 | 86,4              | 18,2             | 13,3              | 25,4              |
| Out/2007 | 119,4             | 18,8             | 15,1              | 24,9              |
| Nov/2007 | 116,8             | 19,0             | 14,8              | 24,7              |
| Dez/2007 | 56,4              | 21,3             | 17,2              | 26,6              |

FONTE: SIMEPAR (Sistema Meteorológico do Paraná), 2008

ANEXO 21 - Precipitações e temperaturas médias mensais, no período de janeiro de 2005 a dezembro de 2007, registradas pela estação meteorológica de Curitiba e fornecidas pelo SIMEPAR, 2008.



ANEXO 22 - Precipitação mensal, temperaturas médias, média das mínimas e média das máximas no período de janeiro de 2005 a janeiro de 2007, registradas pela estação meteorológica de Pinhais e fornecidas pelo SIMEPAR, 2008.

| Mês/ano  | Precipitação (mm) | Temperatura (°C) |                   |                   |
|----------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|
|          |                   | Média            | Média das mínimas | Média das máximas |
| Jan/2005 | 141,8             | 20,0             | 17,0              | 25,1              |
| Fev/2005 | 67,6              | 19,0             | 15,6              | 24,5              |
| Mar/2005 | 123,8             | 13,4             | 8,9               | 19,2              |
| Abr/2005 | 85,4              | 17,2             | 14,1              | 22,5              |
| Mai/2005 | 153,6             | 20,4             | 16,9              | 26,2              |
| Jun/2005 | 63,8              | 17,3             | 13,0              | 23,5              |
| Jul/2005 | 99,6              | 15,3             | 9,9               | 22,5              |
| Ago/2005 | 118,4             | 17,1             | 13,3              | 23,4              |
| Set/2005 | 210,0             | 20,6             | 17,2              | 26,3              |
| Out/2005 | 149,8             | 18,8             | 15,3              | 24,4              |
| Nov/2005 | 108,8             | 12,9             | 7,8               | 19,3              |
| Dez/2005 | 46,0              | 17,7             | 14,0              | 24,1              |
| Jan/2006 | 91,6              | 20,0             | 16,2              | 26,5              |
| Fev/2006 | 127,2             | 16,5             | 12,4              | 22,1              |
| Mar/2006 | 103,6             | 15,9             | 10,6              | 22,3              |
| Abr/2006 | 20,0              | 17,8             | 13,7              | 23,7              |
| Mai/2006 | 15,0              | 20,9             | 16,9              | 27,3              |
| Jun/2006 | 23,2              | 13,6             | 8,8               | 20,1              |
| Jul/2006 | 37,4              | 15,4             | 10,0              | 22,0              |
| Ago/2006 | 47,0              | 18,1             | 14,7              | 23,7              |
| Set/2006 | 142,8             | 20,8             | 17,2              | 26,9              |
| Out/2006 | 52,6              | 14,4             | 10,3              | 19,9              |
| Nov/2006 | 164,0             | 14,7             | 9,8               | 21,4              |
| Dez/2006 | 60,0              | 17,9             | 13,7              | 24,0              |
| Jan/2007 | 234,2             | 20,1             | 16,3              | 26,3              |

FONTE: SIMEPAR (Sistema Meteorológico do Paraná), 2008

ANEXO 23 - Precipitações e temperaturas médias mensais, no período de janeiro de 2005 a janeiro de 2007, registradas pela estação meteorológica de Pinhais e fornecidas pelo SIMEPAR, 2008.

