

***Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn.: ENRAIZAMENTO, ANATOMIA E ANÁLISES
BIOQUÍMICAS NAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO**

Tibouchina sellowiana (Cham.) Cogn.: ROOTING, ANATOMY AND BIOCHEMICAL ANALYSES IN
THE FOUR SEASONS

Michele Fernanda Bortolini¹ Katia Christina Zuffellato-Ribas² Henrique Soares Koehler³
Antonio Aparecido Carpanezzi⁴ Cícero Deschamps⁵ Marisa De Cacia Oliveira⁶
Cleusa Bona² Juliana Lischka Sampaio Mayer⁷

RESUMO

O presente trabalho buscou verificar os efeitos da aplicação de diferentes concentrações do ácido indolbutírico (AIB), em talco e em solução, no enraizamento de estacas caulinares de *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn. coletadas nas quatro estações do ano, bem como suas variações anatômicas e bioquímicas. Estacas semilenhosas foram tratadas com 0, 1500 e 3000 mg L⁻¹ de ácido indolbutírico (AIB), em talco e solução 50% alcoólica. Após 65 dias em casa-de-vegetação, foram avaliados a porcentagem de estacas enraizadas, o número e o comprimento das raízes, a porcentagem de estacas com calos e a sobrevivência. O uso do AIB mostrou-se eficiente na indução radicial, sendo indiferente a forma em que foi aplicado. As estações mais promissoras foram a primavera (78,75%) com 3.000 mg L⁻¹ ou mg kg⁻¹ de AIB e o verão (63,12%) com 1.500 mg L⁻¹ ou mg kg⁻¹ de AIB. Das secções feitas na base das estacas, no momento da estaquia, não foi detectada nenhuma possível barreira anatômica ou diferença estrutural que promovesse variações no enraizamento. Análises bioquímicas feitas das estacas revelaram que as maiores concentrações de açúcares totais foram obtidas no inverno (83,21 mg g⁻¹ de tecido) e no outono (72,79 mg g⁻¹), as estações que também apresentaram as maiores concentrações de proteínas (4,69 e 3,95 mg g⁻¹ respectivamente).

Palavras-chave: quaresmeira; auxina; enraizamento.

ABSTRACT

The present work tried to verify the effects of application of different concentration of indolebutyric acid (IBA) in talc in solution, in the rooting of cutting of *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn. collected in the four seasons, as well as its anatomical and biochemical variation. The semihardwood cuttings were treated with 0, 1500 and 3000 mg L⁻¹ indolebutyric acid (IBA), in powder and alcoholic solutions. After 65 days in a greenhouse, rooting percentage, length and number of roots, cutting with callus percentage and survival, were evaluated. The use of the IBA was efficient in the induction radicial, being indifferent the form in which it was applied. The most promising stations in the formation of the system radicial were the spring (78,75%) with 3000 mg L⁻¹ or mg kg⁻¹ IBA and the summer (63,12 %) with 1500 mg L⁻¹ or mg kg⁻¹ IBA. (82,50%) with 3000 mg kg⁻¹ IBA. Considering the cutting in the base of the stakes, in the moment of the cutting, no possible anatomical barrier or structural difference were detected so that it should promoted variations in the answers of the rooting using the four seasons. Biochemical analyses done from the cuttings collected in the four seasons revealed that the largest concentrations of total sugars were obtained in the

1. Bióloga, Doutoranda pelo Programa de Pós-graduação em Agronomia – Produção Vegetal, Universidade Federal do Paraná, Caixa Postal 19031, CEP 81531-970, Curitiba (PR). Bolsista CNPq. mibortolini@hotmail.com
2. Bióloga, Dr^a., Professora do Departamento de Botânica, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Caixa Postal 19031, CEP 81531-970, Curitiba (PR). kazu@ufpr.br
3. Engenheiro Florestal, Dr., Professor do Departamento Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Caixa Postal 19031, CEP 81531-970, Curitiba (PR). koehler@ufpr.br
4. Engenheiro Florestal, Dr., Pesquisador Embrapa Florestas, Estrada da Ribeira, Km 111, Caixa Postal 319, CEP 83411-000, Colombo (PR). carpa@cnpf.embrapa.br
5. Engenheiro Agrônomo, Dr., Professor do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Caixa Postal 19031, CEP 81531-970, Curitiba (PR). cicero@ufpr.br
6. Engenheira Agrônoma, Dr^a. Professora da Universidade Tecnológica do Paraná, Via do Conhecimento, Km 01, CEP 85503-390, Pato Branco (PR). marisaolive@ufpr.br
7. Bióloga, Doutoranda pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Estadual de Campinas, Cidade Universitária, CEP 13083970, Campinas (SP). mjimayer@yahoo.com.br

Recebido para publicação em 18/07/2006 e aceito em 25/03/2008.

winter (83,21 mg g⁻¹) and in the autumn (72,79 mg g⁻¹). The same stations also presented the largest protein concentrations (4,69 and 3,95 mg g⁻¹ respectively).

Keywords: quaresmeira; auxin; rooting.

INTRODUÇÃO

A popular quaresmeira, *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn., Melastomataceae, além de ser considerada uma planta ornamental, pela sua forma bem copada e bela floração (Corrêia, 1974), é uma espécie nativa e pioneira, com importância na recuperação de ecossistemas degradados (Tabareli e Mantovani, 1999).

A propagação sexuada de *Tibouchina sellowiana* é dificultada pela coleta das sementes em razão do tamanho reduzido destas (Barbosa *et al.*, 1988). Em 1kg de sementes de *Tibouchina sellowiana* estão contidos aproximadamente trinta e seis milhões de unidades (Longhi, 1995). Uma opção para a produção de mudas dessa espécie é a propagação vegetativa via estaquia.

Tratar as estacas com fitoreguladores como o ácido indolbutírico (AIB), além de estimular a iniciação radicial, promove o aumento da porcentagem de estacas enraizadas, acelera o tempo de formação das raízes e, conseqüentemente, diminui a permanência das estacas no leito de enraizamento (Alvarenga e Carvalho, 1983).

A aplicação dos fitoreguladores pode ser realizada na forma de talco, muito utilizada por ser de fácil manuseio e na maioria dos casos gerar bons resultados. Mas o talco pode ser lixiviado com o tempo, e por não se ter uma homogênea aplicação, acarreta em enraizamento não-uniforme em todo o diâmetro da estaca (Fortes, 1998). A utilização de soluções concentradas possibilita uma aplicação homogênea nas estacas e, conseqüentemente, um enraizamento uniforme. Mas, nesse caso, a resposta à aplicação exógena de auxinas depende não só da concentração como também da duração do tratamento (Ono e Rodrigues, 1996).

Existe certa contradição quanto à melhor estação do ano para a coleta do material vegetativo. Fica claro o efeito de cada estação sobre o enraizamento de estacas, parecendo estar relacionado ao nível endógeno de auxina e que mesmo com aplicação de fitoreguladores nas estacas, essa relação é mantida (Zuffelato-Ribas e Rodrigues, 2001). Assim, o efeito dos reguladores aplicados pode variar conforme a estação do ano, estimulando em uma ou até inibindo em outra (Iritani *et al.*, 1986).

Co-fatores do enraizamento são considerados substâncias endógenas, capazes de atuar sinergicamente com as auxinas no enraizamento de estacas, atuando como promotores ou inibidores desse processo (Hartmann *et al.*, 2002). Altas concentrações de carboidratos e proteínas nas estacas parecem apresentar correlação com a habilidade ao enraizamento (Thimann e Poutasse, 1941; Purushotham *et al.*, 1984; Veierskov, 1988; Ribas, 1997; Palanisamy e Subramanian, 2001).

A importância do conhecimento da estrutura interna do caule da espécie utilizada na estaquia, pode permitir desvendar o insucesso do enraizamento que, em alguns casos, ocorre pela presença de barreiras anatômicas à emergência dos primórdios radiciais (Ono e Rodrigues, 1996), bem como o desenvolvimento de fibras e esclereídes no floema primário, formando um anel contínuo na região cortical do caule, características presentes na grande maioria de estacas coletadas de plantas adultas (White e Lovell, 1984).

Este trabalho teve como objetivo estudar os efeitos da aplicação de diferentes concentrações do ácido indolbutírico (AIB), em talco e em solução, no enraizamento de estacas caulinares de *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn. coletadas nas quatro estações do ano, bem como suas variações anatômicas e bioquímicas.

MATERIAL E MÉTODOS

A coleta do material vegetativo foi realizada em cada estação do ano: primavera (15 de outubro/2004), verão (15 de janeiro/2005), outono (15 de abril/2005) e inverno (15 de julho/2005), no período da manhã, partindo de 10 plantas matrizes adultas de *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn., considerados indivíduos não-aparentados, com cerca de 20 a 30 cm de diâmetro na altura do peito (DAP), localizadas no município de Colombo, PR, a 25°17'30'' sul de latitude e 49°13'27'' de longitude oeste.

Estacas caulinares semilenhosas, com 10 cm de comprimento, foram tratadas com hipoclorito de sódio a 0,5% por 10 minutos, sendo posteriormente lavadas em água corrente por 5 minutos e tratadas com benomyl (0,25 g L⁻¹) por 15 minutos. As bases das estacas foram tratadas com soluções 50% alcoólicas de ácido indolbutírico (AIB): 0; 1500; 3000 mg L⁻¹ de AIB, por 10 minutos e as mesmas concentrações

diretamente no pó, quando veiculadas sob a forma de talco. Os tratamentos controle possuíam solução alcoólica 50% ou talco inerte.

O plantio foi realizado em tubetes de polipropileno com 53 cm³ contendo vermiculita de granulometria média como substrato, mantidos em casa-de-vegetação climatizada do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba, PR, por 65 dias. Finalizando esse período, avaliaram-se a porcentagem de enraizamento, o número e o comprimento das raízes formadas, a porcentagem de estacas com calos, a porcentagem de estacas vivas e de mortas.

Os dados foram analisados separadamente em cada estação, segundo um delineamento inteiramente casualizado com arranjo fatorial 3 x 2 (três concentrações de AIB e duas formas de aplicação), com quatro repetições de vinte estacas por unidade experimental. As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett. As variáveis, cujas variâncias se mostraram homogêneas, foram submetidas à análise de variância e as que apresentaram diferenças significativas pelo teste de F, tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. As médias para as variáveis estacas vivas e calosidade, quando não apresentaram homogeneidade, foram transformadas por \sqrt{x} e $\sqrt{x+1}$ respectivamente.

Para a análise anatômica qualitativa, foram coletadas amostras da base de duas estacas no momento da instalação dos experimentos nas quatro estações do ano. A fixação das amostras foi feita em FAA 70 (Johansen, 1940), sendo depois de 12 horas conservadas em álcool 70%. As análises foram feitas por meio de lâminas permanentes, nas quais foram empregadas técnicas de coloração (Feder e O'Brien, 1968). Adicionalmente, na primavera, foram coletadas as bases de duas estacas tratadas com 3000 mg L⁻¹ AIB, retiradas do leito de enraizamento, em intervalos de 1 dia, durante 30 dias após a instalação do experimento, na tentativa da observação do local de origem das raízes.

Para a preparação das lâminas permanentes, os materiais foram emblocados em historresina (GMA-glicol metacrilato), segundo a técnica de Feder e O'Brien (1968). Os blocos foram seccionados em micrótomo rotatório e os cortes foram obtidos com 7 µm de espessura e corados com fucsina básica e azul de astra (Alves de Brito e Alquini, 1996). As lâminas foram montadas com resina sintética (Permalte[®]).

Para a quantificação de açúcares totais e proteínas, foi empregada uma técnica adaptada de Nascimento *et al.* (1998), sendo utilizadas três estacas coletadas em cada uma das estações do ano, no momento da instalação do experimento de estaquia. Cada estaca foi pesada e macerada separadamente com 10 mL de etanol 80% para a extração de açúcares totais, e 10 mL de tampão fosfato, 0,2 M, pH 7,5, para proteínas, seguido de aquecimento em banho-maria por 10 minutos. Depois de filtrar o sobrenadante, este foi novamente aquecido, sendo o procedimento repetido por três vezes. Após a evaporação do etanol, 3 mL de água destilada foram adicionados para a obtenção dos extratos finais, os quais foram acondicionados em frascos, sendo congelados e analisados posteriormente.

Para proceder à análise da quantificação de açúcares totais, utilizaram-se 10 µL do extrato, 490 µL de água destilada, 0,5 mL de fenol e 2,5 mL de H₂SO₄. As leituras foram realizadas a 490 nm em espectrofotômetro e comparadas com uma curva-padrão de glicose (Dubois *et al.*, 1956). Já para a análise da quantificação de proteínas utilizaram-se 50 µL do extrato, 450 µL de água destilada e 1 mL do reagente Bio-Rad. As leituras foram realizadas a 620 nm em espectrofotômetro e comparadas com uma curva-padrão de proteína, partindo de uma solução de soro albumina bovina (BSA) (Bradford, 1976).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primavera de 2004, a porcentagem de enraizamento, o comprimento médio das três maiores raízes, a porcentagem de estacas vivas e de estacas mortas, não apresentaram interação entre os fatores concentração e forma de aplicação de AIB. Apenas para o fator concentração de AIB houve efeito significativo sobre essas variáveis. Nessa estação, apenas o número de raízes formadas apresentou interação significativa entre os fatores concentração e forma de aplicação de AIB.

A porcentagem de enraizamento das estacas de *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn coletadas na primavera foi maior na concentração de 3.000 mg de AIB, diferindo estatisticamente da testemunha (46,87%) (Tabela 1). Foi registrado na data da coleta das estacas, alto índice pluviométrico, o qual sugere favorecimento da planta matriz no campo, representando contribuição ao sucesso do enraizamento.

Purushotham *et al.* (1984), trabalhando com estacas de *Coffea canephora* Pierre (café) e Kibbler *et al.* (2004) com estacas de *Backhousia citriodora* (F.) Muell (limão-de-mirtilo), também encontraram coincidência dos períodos de chuva com o período de maior porcentagem de enraizamento.

TABELA 1: Porcentagem de enraizamento de estacas de *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn, coletadas nas quatro estações do ano e porcentagem de calosidade no inverno. Colombo – 2004-2005.

TABLE 1: Rooting percentage to *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn, cuttings collected in four seasons and with callus cuttings in winter. Colombo – 2004-2005.

Estação	Forma de aplicação	Porcentagem enraizamento			Médias
		Concentrações de AIB (mg L ⁻¹ ou mg Kg ⁻¹)			
		0	1500	3000	
Primavera	Solução	36,25	61,25	75,00	57,50
	Talco	57,50	58,75	82,50	66,25
	Médias	46,87 b	60,00 ab	78,75 a	-
Verão	Solução	12,50	57,50	51,25	40,42 A
	Talco	31,25	68,75	52,50	50,83 A
	Médias	21,87 b	63,12 a	51,87 a	-
Outono	Solução	17,50	25,00	33,75	22,42
	Talco	17,50	31,25	20,00	22,92
	Médias	17,50	28,12	26,87	-
Inverno	Solução	7,50	17,25	11,25	12,08
	Talco	12,50	22,50	32,50	22,50
	Média	10,00	20,00	21,81	-
Porcentagem de estacas com calos					
Inverno*	Solução	6,25	0,00	6,25	4,16
	Talco	7,50	0,00	13,75	7,08
	Média	6,87 a	0,00 b	10,0 a	-

Em que: Primavera (CV% = 31,43, $\chi^2 = 1,49^{ns}$); Verão (CV% = 25,99, $\chi^2 = 7,36^{ns}$); Outono (CV% = 62,36, $\chi^2 = 6,31^{ns}$); Inverno (CV% = 116,81, $\chi^2 = 2,24^{ns}$); Inverno com calos*, dados transformados (CV% = 54,68, $\chi^2 = 6,68^{ns}$). AIB = ácido indolbutírico. Médias seguidas da mesma letra minúscula na horizontal não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Ainda na primavera, para o número de raízes por estaca, o melhor tratamento foi para a concentração de 3000 mg L⁻¹ de AIB em solução, com 8,26 raízes por estaca, diferindo estatisticamente do tratamento com a mesma concentração, mas aplicado na forma de talco (5,25 raízes). O comprimento médio das três maiores raízes por estaca foi maior na concentração de 3.000 mg de AIB com 10,08 cm, diferindo estatisticamente da testemunha com 7,45 cm (Tabela 2).

Mesmo não diferindo estatisticamente, a maior porcentagem de estacas vivas foi registrada na testemunha 17,5% (Tabela 3). Para a variável mortalidade, a maior porcentagem foi registrada para a testemunha (35,63%) diferindo significativamente da concentração de 3.000 mg de AIB (15,00%) (Tabela 4).

Para estacas coletadas no verão de 2005, verificou-se apenas efeito isolado dos fatores estudados nas porcentagens de enraizamento e de estacas mortas. Já para o número de raízes por estacas, não houve efeito dos tratamentos. Para o comprimento médio das três maiores raízes, ocorreu interação significativa entre os fatores concentração e forma de aplicação de AIB. Nessa estação, não foram observadas estacas vivas que não apresentavam raízes formadas, não sendo apresentada essa variável.

Para a porcentagem de enraizamento de estacas de *Tibouchina sellowiana* coletadas no verão, os tratamentos com 1.500 e 3.000 mg de AIB mostraram-se estatisticamente superiores (63,12% e 51,87%) à testemunha (21,87%). Não houve diferença estatística entre as formas de aplicação, mas a aplicação em talco mostrou-se numericamente superior (50,83%) quando comparada à solução (40,42%) (Tabela 1).

TABELA 2: Número de raízes e comprimento médio das três maiores raízes de estacas de *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn. coletadas nas quatro estações do ano. Colombo – 2004-2005.

TABLE 2: Number of root and medium length of three larger roots to *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn. cuttings collected in four seasons. Colombo – 2004-2005.

Estação	Forma de aplicação	Número de raízes			Médias	Comp. médio das raízes			Médias
		Concentração de AIB (mg L ⁻¹ ou mg Kg ⁻¹)				Concentração de AIB (mg L ⁻¹ ou mg Kg ⁻¹)			
		0	1500	3000		0	1500	3000	
Primavera	Solução	6,41 Aa	6,20 Aa	8,26 Aa	6,95	8,38	9,04	9,18	8,87
	Talco	5,90 Aa	7,12 Aa	5,25 Ba	6,08	6,51	9,06	10,98	8,85
	Médias	6,15	6,65	6,75	-	7,45 b	9,05 ab	10,08 a	-
Verão	Solução	9,80	5,79	9,89	8,49	7,20 Ab	8,14 Ab	12,35 Aa	9,23
	Talco	6,16	7,91	9,70	7,92	6,61 Aa	8,50 Aa	9,02 Ba	8,04
	Médias	7,97	6,85	9,80	-	6,91	8,32	10,68	-
Outono	Solução	6,11	5,11	2,76	4,66	3,70	6,45	4,80	4,98
	Talco	2,83	5,32	7,20	5,12	2,10	5,70	5,84	4,58
	Médias	4,98	5,22	4,98	-	2,95	6,07	5,32	-
Inverno	Solução	1,21	2,81	0,66	1,56	0,98	2,12	1,94	1,68
	Talco	2,73	3,62	5,00	3,78	0,56	1,73	2,17	1,50
	Média	1,96	5,22	2,84	-	0,77	1,93	2,05	-

Em que: Primavera (CV% 18,87, $\chi^2 = 2,64^{ns}$ para número de raízes, CV% = 16,62, $\chi^2 = 7,37^{ns}$ para comp. médio); Verão (CV% = 46,16, $\chi^2 = 10,70^{ns}$ para número de raízes, CV% = 15,63, $\chi^2 = 10,16^{ns}$ para comp. médio); Outono (CV% = 69,46, $\chi^2 = 7,58^{ns}$ para número de raízes, CV% = 67,47, $\chi^2 = 1,84^{ns}$ para comp. médio); Inverno (CV% = 181,81, $\chi^2 = 5,70^{ns}$ para número de raízes, CV% = 116,33, $\chi^2 = 6,82^{ns}$ para comp. médio). AIB = ácido indolbutírico. Médias seguidas da mesma letra minúscula na horizontal e da mesma letra maiúscula na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 3: Porcentagem de estacas vivas (sem raízes e sem calos) de *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn., coletadas nas quatro estações do ano. Colombo – 2004-2005.

TABLE 3: Living cuttings percentage to *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn., collected in four seasons. Colombo – 2004-2005.

Estação	Forma de aplicação	Porcentagem de estacas vivas			Médias
		Concentração de AIB (mg L ⁻¹ ou mg Kg ⁻¹)			
		0	1500	3000	
Primavera	Solução	23,75	2,50	8,75	11,67
	Talco	11,25	6,25	3,75	7,08
	Médias	17,50 a	4,37 a	6,25 a	-
Outono*	Solução	33,75	3,75	3,75	13,75
	Talco	7,50	7,50	5,00	6,67
	Médias	20,62a	5,62a	4,37a	-
Inverno	Solução	1,21	2,81	0,66	1,56
	Talco	2,73	3,62	5,00	3,78
	Média	1,96	5,22	2,84	-

Em que: Primavera (CV% = 112,96, $\chi^2 = 7,90^{ns}$); Outono*, dados transformados (CV% = 83,67, $\chi^2 = 0,68^{ns}$); Inverno (CV% = 67,03, $\chi^2 = 6,89^{ns}$). AIB = ácido indolbutírico. Médias seguidas da mesma letra minúscula na horizontal, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 4: Porcentagem de estacas mortas de *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn., coletadas nas quatro estações do ano. Colombo- 2004-2005.TABLE 4: Mortality cuttings percentage to *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn., collected in four seasons. Colombo – 2004-2005.

Estação	Forma de aplicação	Porcentagem de estacas mortas			Médias
		Concentração de AIB (mg L ⁻¹ ou mg Kg ⁻¹)			
		0 mg	1500 mg	3000 mg	
Primavera	Solução	40,00	36,25	16,25	30,83
	Talco	31,25	32,25	13,75	25,83
	Média	35,63 a	34,38 ab	15,00 b	-
Verão	Solução	87,50	42,50	48,75	59,58 A
	Talco	68,75	31,25	47,50	49,17 A
	Média	78,12 a	36,87 b	48,12 b	-
Outono	Solução	47,50	71,25	62,50	60,42
	Talco	75,00	61,25	75,00	70,42
	Média	61,25	66,25	68,75	-
Inverno	Solução	77,50	61,25	78,75	72,50
	Talco	62,50	62,50	47,50	57,50
	Média	70,00	61,87	63,12	-

Em que: Primavera (CV% = 55,5, $\chi^2 = 9,67^{ns}$); Verão (CV% = 21,81%, $\chi^2 = 10,16^{ns}$); Outono (CV% = 28,23, $\chi^2 = 4,91^{ns}$); Inverno (CV% = 41,33, $\chi^2 = 1,58^{ns}$). Médias seguidas da mesma letra minúscula na horizontal e da mesma letra maiúscula na vertical não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Nas estações quentes, primavera e verão, os ramos de *Tibouchina sellowiana* encontravam-se em pleno crescimento vegetativo, com emissão de gemas e folhas jovens, importantes fontes de auxinas endógenas e demais cofatores, favorecendo, portanto a indução do enraizamento. Kersten *et al.* (1994) relacionaram o sucesso do enraizamento de estacas semilenhosas de *Prunus salicina* Lindl. (ameixeira) ao estado de pleno crescimento vegetativo em que se encontravam as plantas matrizes.

Não houve diferença estatística para o número de raízes formadas, mas numericamente o tratamento com 3.000 mg L⁻¹ de AIB (solução) foi o que representou o maior valor (9,89 raízes). Já para o comprimento médio das três maiores raízes por estaca, 3.000 mg L⁻¹ de AIB (solução) foi o melhor tratamento (12,35 cm), diferindo estatisticamente das demais concentrações e da aplicação da mesma concentração sob a forma de talco (Tabela 2).

A testemunha, sem AIB, apresentou a maior porcentagem de estacas mortas no verão (78,12%) e não houve diferença entre as formas de aplicação (Tabela 4). Esse resultado pode comprovar o efeito dos fitoreguladores na indução do sistema radicial, já que as estacas que permaneceram vivas nessa estação enraizaram.

Para os dados obtidos do outono de 2005, não houve interação significativa e para nenhum dos fatores ocorreu efeito significativo sobre as variáveis. Somente para a porcentagem de sobrevivência das estacas o fator concentração mostrou-se significativamente efetivo.

A porcentagem de enraizamento de *Tibouchina sellowiana* no outono foi numericamente maior para estacas tratadas com 3.000 mg L⁻¹ de AIB (solução) (33,75%) (Tabela 1). O fato das plantas matrizes de *Tibouchina sellowiana*, neste período, estarem em plena floração pode ter interferido negativamente no desenvolvimento do sistema radicial. Estacas de *Coleonema aspalathoides* Juss. ex Don. (Rutaceae), apresentaram as menores taxas de enraizamento nos períodos em que as coletas foram realizadas de plantas floridas (Heller *et al.*, 1994). A formação de raízes adventícias de *Backhousia citriodora* (F.) Muell (limão-de-mirtilo) também foi prejudicada quando as estacas foram obtidas de plantas matrizes floridas (Kibbler *et al.*, 2004).

Analisando as diferentes concentrações e formas de aplicação de AIB, a maior média para o número de raízes formadas por estaca no outono, foi registrado para 3.000 mg kg⁻¹ de AIB (talco) (7,20 raízes),

mostrando-se superior aos demais tratamentos. Já o tratamento com 1.500 mg L⁻¹ de AIB (solução) apresentou a maior média para o comprimento médio das três raízes (6,45 cm), numericamente superior aos demais tratamentos (Tabela 2).

Ainda no outono, para a variável sobrevivência das estacas, não houve diferença significativa entre as diferentes concentrações de AIB, talvez pela à elevada variação ocorrida entre as repetições. A testemunha se destacou sobre as demais concentrações com 20,62% de sobrevivência (Tabela 3), o mesmo valor registrado para estacas de *Tibouchina pulchra* (Cham.) Cogn. quando coletadas nessa estação, quando a testemunha apresentou 50,00% de sobrevivência (Knapik *et al.*, 2003).

A alta taxa de mortalidade no outono, 75% para estacas tratadas com 0 e 3.000 mg kg⁻¹ de AIB (talco) (Tabela 4), poderia ser justificada pela perda das folhas nos primeiros dias da instalação do experimento. Em geral, nas quatro estações, as estacas de *Tibouchina sellowiana* só enraizaram quando as folhas existentes durante a confecção destas permaneceram posteriormente. Silva (1998) trabalhando com estacas de *Tibouchina stenocarpa* (DC.) Cogn. coletadas no outono, também não obteve sucesso no enraizamento, sendo que as estacas, aos quinze dias do plantio, já haviam perdido as folhas, e logo morreram.

No inverno de 2005, não houve interação significativa entre os fatores concentração e forma de aplicação de AIB para nenhuma das variáveis analisadas, exceto para a porcentagem de estacas com calos, registrada apenas nessa estação, que houve efeito significativo da forma de aplicação de AIB.

Numericamente, o talco se mostrou mais eficaz do que a aplicação em solução, sendo que a maior porcentagem de enraizamento foi encontrada para 3.000 mg kg⁻¹ de AIB (32,50%) (Tabela 1). Períodos em que as plantas matrizes não apresentam crescimento vegetativo, como o inverno, podem resultar em estacas não-adequadas para a formação de raízes adventícias. Segundo Kersten *et al.* (1994) e Hoffmann *et al.* (1995) o aumento da lignificação dos tecidos do caule pode prejudicar a emissão de raízes nas estacas.

Estacas tratadas com 1.500 mg de AIB não apresentaram calos, diferindo estatisticamente da testemunha e das estacas tratadas com 3.000 mg de AIB (6,87 e 10,00% respectivamente) (Tabela 1). Comumente, quando estacas são induzidas ao enraizamento, ocorre a formação de calos, através dos quais as raízes emergem. Porém, a formação das raízes adventícias e dos calos são processos independentes e sua ocorrência simultânea se explica pelo fato de que, em ambos, ocorre o processo de divisão celular, podendo este depender de condições internas e ambientais similares (Alvarenga e Carvalho, 1983; Ferri, 1997; Hartmann *et al.*, 2002).

Para estacas coletadas no inverno, o melhor resultado do número de raízes formadas foi para 3.000 mg kg⁻¹ de AIB em talco (5,00) e para o comprimento médio das três maiores raízes, também a concentração, 3.000 mg kg⁻¹ de AIB (talco) apresentou a maior média (2,17 cm) (Tabela 2).

A maior porcentagem de estacas vivas, para estacas coletadas no inverno, foi registrada para 3.000 mg kg⁻¹ de AIB (talco) (5,00%) (Tabela 3). Para as estacas de *Tibouchina sellowiana* coletadas tanto no outono como no inverno de 2005, a queda das folhas pode ter prejudicado a sobrevivência destas. Estacas de *Prunus africana* (Hook. f.) Kalkman sem folhas apresentaram menores porcentagens de sobrevivência do que estacas com folhas (Tchoundjeu *et al.*, 2002).

Estacas de *Tibouchina sellowiana* tratadas com 3.000 mg L⁻¹ de AIB (solução) apresentaram a maior porcentagem de mortalidade (78,75%) (Tabela 4), possivelmente pelo uso de altas concentrações de AIB. Nachtigal *et al.* (2004) constataram que, para estacas semilenhosas de *Psidium cattleianum* Sabine (araçazeiro), o aumento da mortalidade das estacas ocorreu com o aumento das concentrações de AIB.

Analisando as secções da base das estacas coletadas nas quatro estações do ano, não foi detectada nenhuma possível barreira anatômica que possa dificultar o enraizamento. O caule dessa espécie se encontrava em crescimento secundário com periderme instalada e fragmentos do córtex primário e floema secundário sendo eliminados (Figura 1 A-D e Figura 2 A-D). Na medula, foram encontrados feixes de floema medular dispersos, também encontrados em secções transversais da base de estacas de *Tibouchina fothersgillae* (Mayer *et al.*, 2003). No xilema secundário existem elementos de vaso obliterados com mucilagem, possivelmente para evitar cavitação nos elementos condutores (Appezato-da-Gloria e Carmello-Guereiro, 2003). Em uma seção transversal da base de uma estaca de *Tibouchina sellowiana*, após 24 dias no leito de enraizamento, a conexão vascular da estaca com a raiz comprova que as raízes formadas eram

funcionais, com capacidade de absorção (Figura 3 A-C).

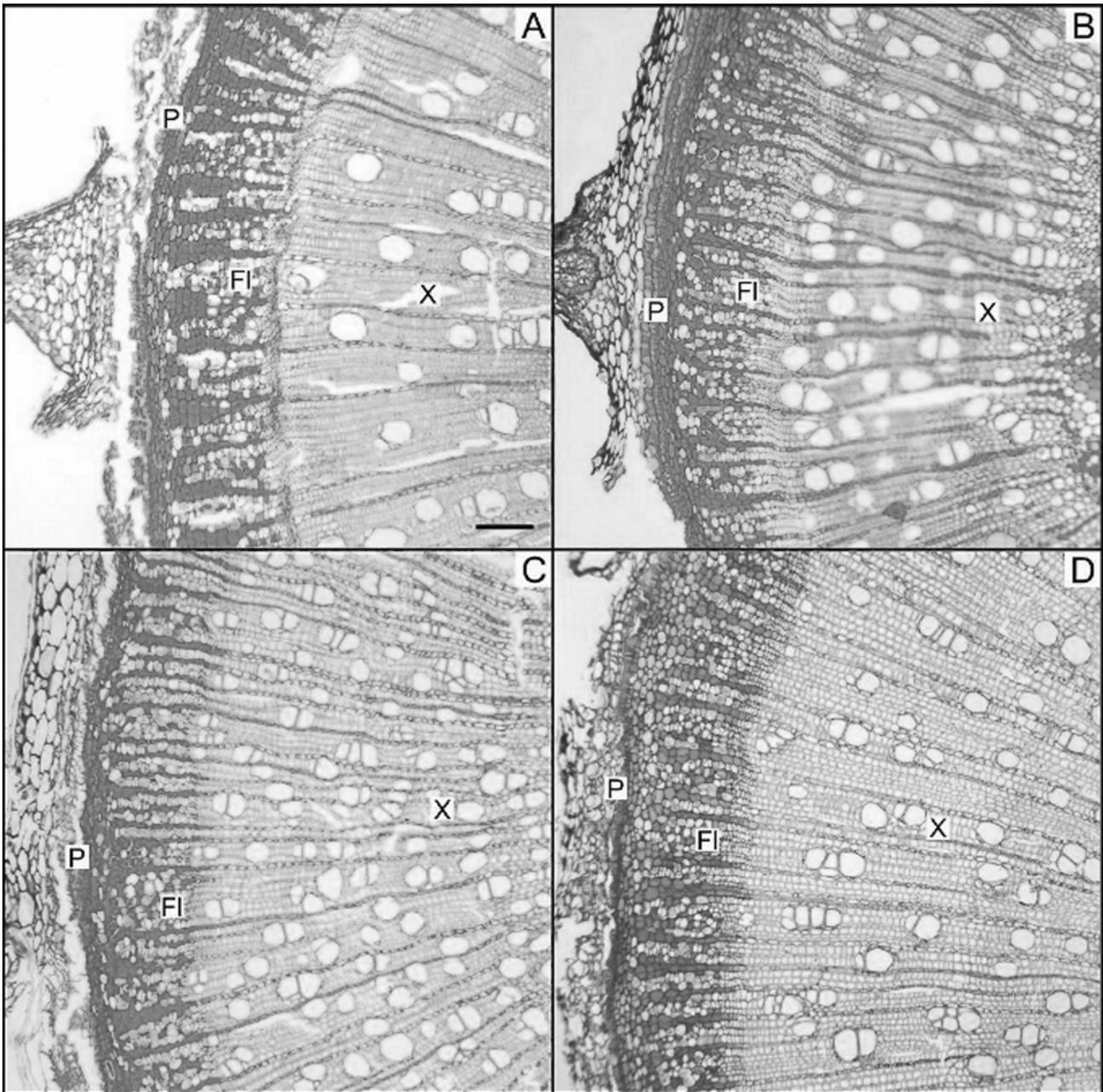


FIGURA 1: A-D. Seções transversais da base de estacas caulinares semilenhosas de *Tibouchina sellowiana* (Cham) Cogn. coletadas nas quatro estações do ano. A. primavera. B. verão. C. outono. D. inverno. Visualizar a periderme (P), o floema secundário (Fl) e o xilema secundário (X). Barra 100 μ m.

FIGURE 1: A-D. Transversal stem sections of *Tibouchina sellowiana* (Cham) Cogn semihardwood cuttings collected in four seasons. A. spring; B. summer; C. autumn; D. winter. Peridermis (P), secondary phloem (Fl) and secondary xylem (X). Bar 100 μ m.

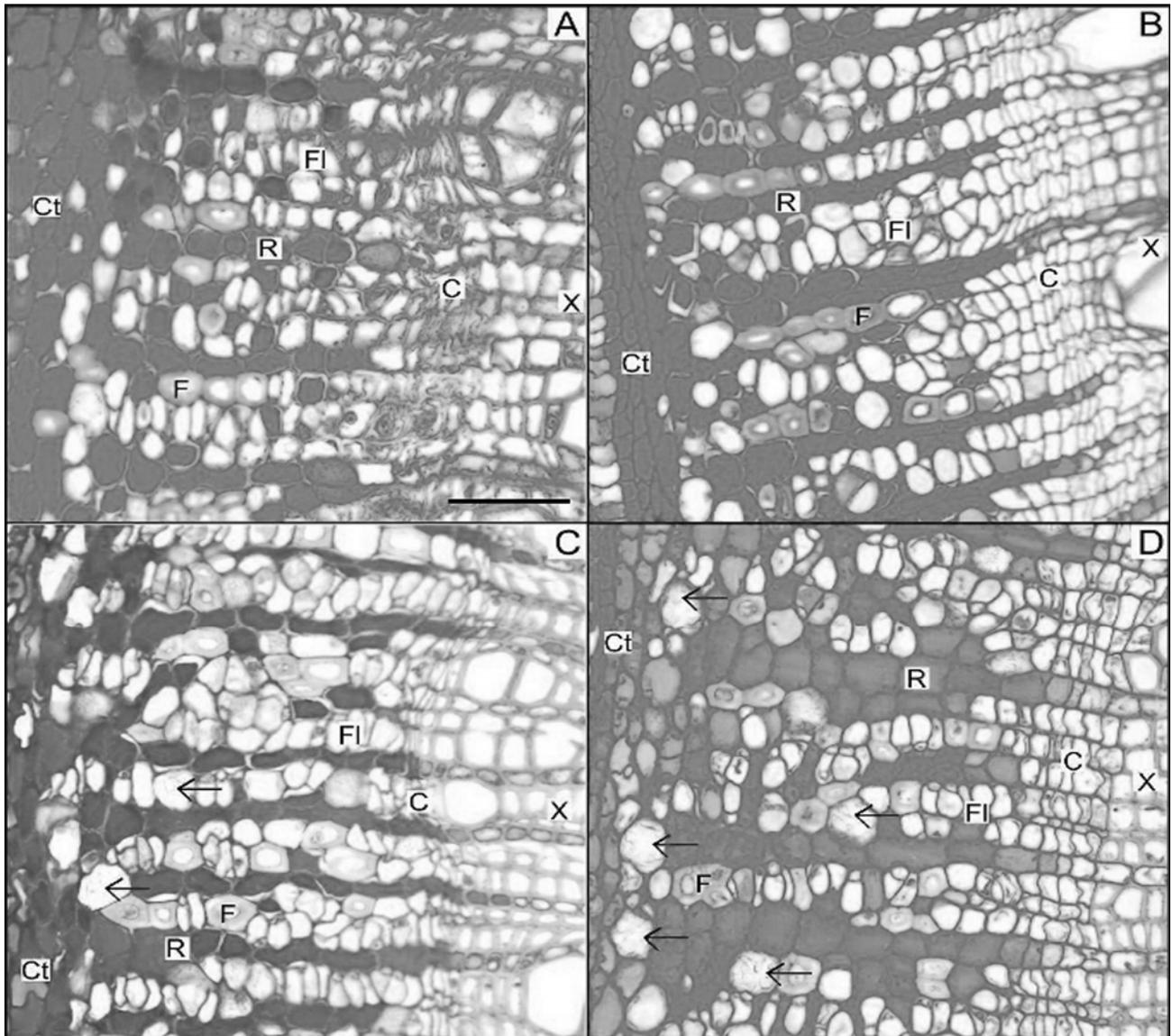


FIGURA 2: A-D. Seções transversais da base de estacas caulinares semilenhosas de *Tibouchina sellowiana* (Cham) Cogn coletadas nas quatro estações do ano. A. primavera. B. verão. C. outono. D. inverno. Visualizar o córtex (Ct), os raios (R), as fibras do floema secundário (F), o floema secundário (Fl), o câmbio (C), o xilema secundário (X) e idioblastos contendo drusas (←). Barra 50 μ m.

FIGURE 2: A-D. Transversal stem sections of *Tibouchina sellowiana* (Cham) Cogn semihardwood cuttings collected in four seasons. A. spring; B. summer; C. autumn; D. winter. Cortex (Ct), rays (R), secondary phloem fibers (F), secondary phloem (Fl), cambium (C), secondary xylem (X) and druses (←). Bar 50 μ m.

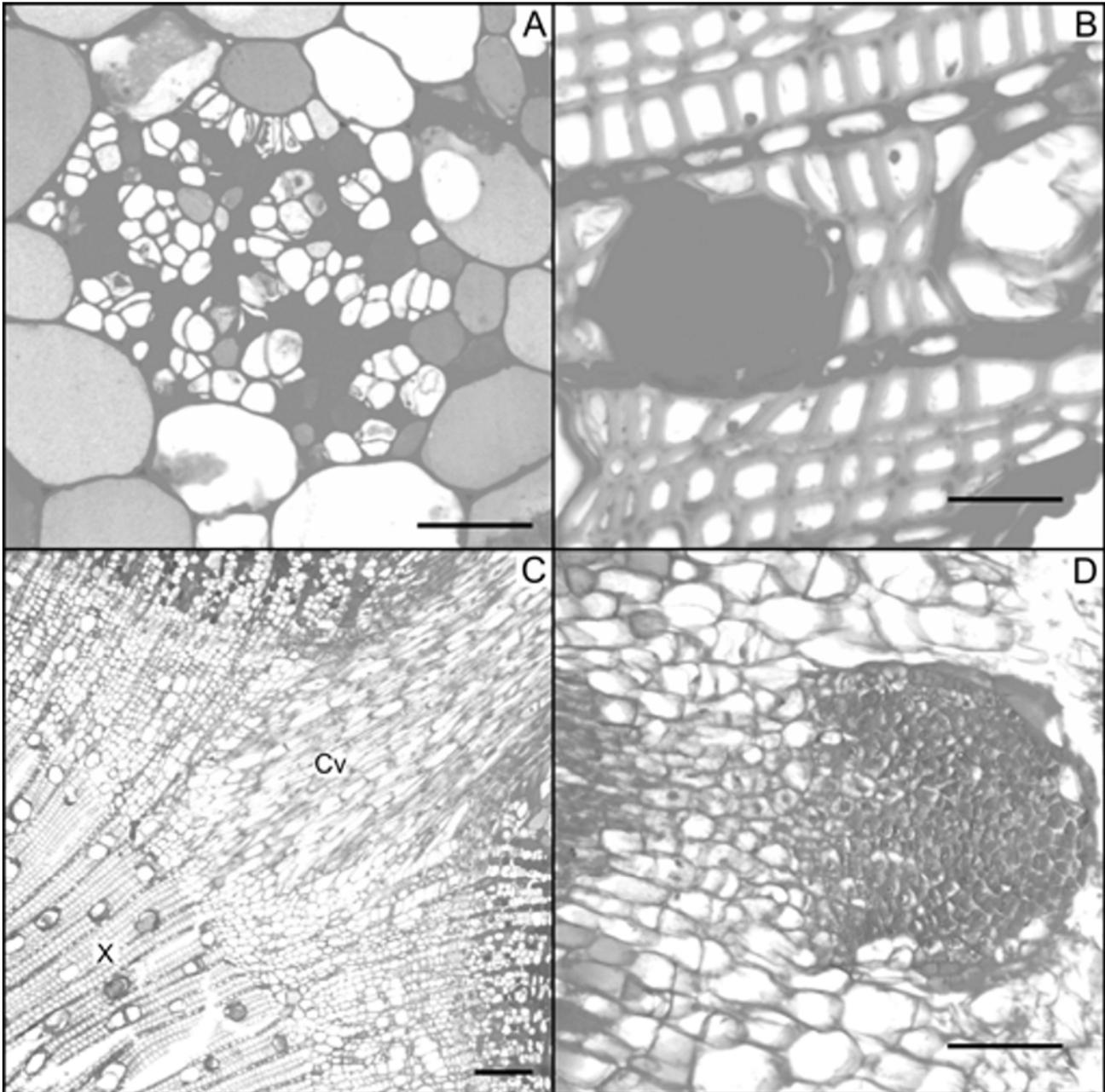


FIGURA 3: A-B. Seções transversais da base de estacas caulinares semilenhosas de *Tibouchina sellowiana* (Cham) Cogn. A. Medula com feixes floemáticos. Barra 50 μm . B. Detalhe do xilema secundário com elemento de vaso obliterado. C-D. Seções transversais da base de estacas após 24 dias da instalação do experimento. Visualizar a conexão vascular da raiz adventícia com caule (Cv) e o Xilema (X). Barra 100 μm . D. Ápice da raiz adventícia. Barra 25 μm .

FIGURE 3: A-B. Transversal stem sections of *Tibouchina sellowiana* (Cham) Cogn semihardwood cuttings. A. Pith whit phloem sheafs. Bar 50 μm . B Secondary xylem with blocked vessel element. C-D Transversal sections of cuttings after 24 days of experiment installation. Advention root of vascular connection with stem (Cv) and xylem (X) Bar 100 μm . D. Advention root apex. Bar 25 μm .

Segundo os resultados obtidos para a quantificação de açúcares totais, as estacas coletadas no inverno e no outono de 2005 apresentaram as maiores concentrações de açúcares totais, 83,21 e 72,79 mg g^{-1} respectivamente. Enquanto que, para o material coletado na primavera e verão, foram registrados respectivamente 36,60 e 33,82 mg g^{-1} . Quanto ao conteúdo de proteínas, as estacas coletadas na primavera e

no verão apresentaram, respectivamente, 1,15 e 2,11 mg g⁻¹. Já no outono e inverno também foram maiores as concentrações de proteína (4,69 e 3,95 mg g⁻¹ respectivamente). Essas estações foram as que apresentaram as menores porcentagens de enraizamento para *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn. French (1990), trabalhando com estacas de *Rhododendron* cultivar “Anna Rose Whitney”, assim como Rowe *et al.* (2002) com estacas de *Pinus taeda* L., também não encontraram relação do sucesso do enraizamento com altas concentrações de carboidratos.

Ao longo das quatro estações estudadas, foi possível perceber que, durante a primavera de 2004 e o verão de 2005, as plantas matrizes de *Tibouchina sellowiana* apresentavam gemas vegetativas em desenvolvimento. Possivelmente, os elevados teores de carboidratos armazenados no outono e inverno se tornaram disponíveis na primavera e verão, quando a planta necessitava de energia para a brotação e, conseqüentemente, essa disponibilidade favoreceu o sucesso do enraizamento nesse período, uma vez que na base da estaca estaria ocorrendo ativa divisão celular e crescimento, atuando essa região como potente dreno.

Já as maiores concentrações de proteínas registradas no outono e inverno de 2005 poderiam estar relacionadas com as condições estruturais do material vegetativo, sendo que as estacas coletadas nessas estações compreendiam brotações do ano anterior e poderiam apresentar maior acúmulo de proteínas estruturais. Proteínas ricas em prolina (PRPs) que estão concentradas na parede secundária dos elementos do protoxilema e proteínas ricas em glicina (GRPs), que são encontradas nos esclereídes, associados com parede primária e secundária das células, são exemplos de proteínas estruturais (Buchanan *et al.*, 2000).

CONCLUSÕES

Nas condições em que foi desenvolvido o presente trabalho, foi possível concluir que não existiram barreiras anatômicas que possam prejudicar o enraizamento das estacas de *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn., e que não houve relação positiva entre as altas concentrações de carboidratos e proteínas nas diferentes estações do ano, com o sucesso do enraizamento. No entanto, para a propagação dessa espécie, recomenda-se a aplicação de 3.000 mg L⁻¹ AIB na forma líquida ou em talco para estacas coletadas na primavera.

AGRADECIMENTOS

Os autores consignam sinceros agradecimentos aos Srs. Vero Oscar Cardoso dos Santos, Carlos Amílcar de Carvalho Silva e Paulino Graff, da Embrapa Florestas, pela ajuda constante na coleta de material e instalação dos experimentos. Ao Cnpq e Finep – CTInfra I pelo financiamento deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- ALVES DE BRITO, C. J. F.; ALQUINI, Y. A new method for staining botanical material embedded in glicol methacrylate (GMA). **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, São Paulo, v. 39, n.4, p. 949-950, 1996.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia vegetal**. Viçosa: UFV, 2003. 438p.
- BARBOSA, J. M.; BARBOSA, L. M.; PINTO, M. M.; AGUIAR, I. B. de. Efeito do substrato, temperatura e luminosidade na germinação de sementes de quaresmeira. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.10, n. 3, p. 69-77, 1988.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, p. 248-254, 1976.
- BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville : American Society of Plant Physiologists, 2000. 1367p.
- CORRÊA. **Dicionário de plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1974. 646p. v. 3.
- DUBOIS, M.; GILLES, J.K.; HAMILTON, P.A.R.; FRED, S. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 28, n. 3, p.350-356, 1956.
- FEDER, N.; O'BRIEN. T.P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 55, n. 1, p. 123-142, 1968.
- FERRI, C.P. Enraizamento de estacas de citrus. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 19, n.1, p.113-121, 1997.
- FORTES, A. M. T. **Efeito de auxinas e ácido bórico em dois métodos de aplicação no enraizamento de estacas de**

- rosa. 1998. 95f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita, Botucatu, 1998.
- FRENCH, C. J. Rooting of *Rhododendron* “Anna Rose Whitney” cuttings as related to stem carbohydrate concentration. **HortScience**, Alexandria, v. 25, n. 4, p. 409-411, 1990.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIS JUNIOR, F. T; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7.ed. New York : Englewood Cliffs, 2002. 880p.
- HELLER, A.; BOROCHOV, A.; HALEVY, A. H. Factors affecting rooting ability of *Coleonema aspalathoides*. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 58, p.335-341, 1994.
- HOFFMANN, A.; FACHINELLO, J. C.; SANTOS, A. M. dos. PROPAGAÇÃO DE MIRTILO (*Vaccinium ashei* Reade) através de estacas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n.2, p. 231-236, 1995.
- JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: MacGraw-Hill, 1940.
- KERSTEN, E.; TAVARES, S. W.; NACHTIGAL, J. C. Influencia do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de ameixeira (*Prunus salicina*, Lindl.) **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 16, n.1, p. 215-22, 1994.
- KIBBLER, H.; JOHNSTON, M. E.; WILLIAMS, R. R. Adventitious root formation in cuttings of *Backhousia citriodora* F. Muell 2. Seasonal influences of temperature, rainfall, flowering and auxins on the stock plant. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 102, p. 343-358, 2004.
- KNAPIK, J.G.; ZUFFELLATO-RAIBS, K. C.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F.R.; KOEHLER, H.S. Influência da época de coleta e da aplicação de ácido indolbutírico na propagação por estaquia da *Tibouchina pulchra* (Cham.) Cogn. (quaresmeira). **Iheringia**, Série Botânica, Porto Alegre, v. 58, n.2, p.171-179, 2003.
- LONGHI, R. A. **Livro das Árvores: árvores e arvoretas do Sul**. Porto alegre: L&PM, 1995. 176p.
- MAYER, J. L.; ZUFFELLATO-RAIBS, K. C.; BONA, C.; RAIBS, L. L. F.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R. Enraizamento e anatomia de estacas de *Tibouchina fothergillae* (DC.) Cogn. (Melastomataceae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 9., 2003, AtAIBia. **Resumos**. AtAIBia: Brazilian journal of Plant Physiology, 2003. p.148.
- NACHTIGAL, J. C.; HOFFMANN, A.; KLUGE, R. A.; MAZZINI, A. R. A. de. Enraizamento de estacas semilenhosas de araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine) com o uso do ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 16, n.1, p. 229-235, 1994.
- NACIMENTO, R. de.; MOSQUIM, P. R.; ARAÚJO, E. F.de.; SANTANNA, R. Distribuição de amido, açúcares solúveis e atividades de invertase em explantes de soja sob várias concentrações de sacarose e diferentes fontes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v.10, n.2, p.125-130, 1998.
- ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Jaboticabal: FUNEP,1996. 83p.
- PALANIASAMY, K.; SUBRAMANIAN, K. Vegetative propagation of mature Teak Trees (*Tectona grandis* L.). **Silvae Genética**, Frankfurt am Main, v. 50, n. 5, p. 188-191, 2001.
- PURUSHOTHAM, K.; SULLADMATH, U. V.; RAMAIAH, P. K. Seasonal changes in biochemical constituents and their relatio to rooting of coffee (*Coffe canephora* Pierre) sucker cuttings. **Journal of Coffe Reserch**, Mysore, v. 14, n. 3, p. 117-130, 1984.
- RIBAS, K. C. **Interação entre auxinas e co-fatores do enraizamento na promoção do sistema radicular em estacas de *Eucalyptus grandis* W. Hill. Ex Maiden**. 1997. 150f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – Botânica) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 1997.
- ROWE. D. B.; BLAZICH, F.A.; GOLDFARB, B. Nitrogen nutrition of hefged stock plants of Loblolly Pine. II. Influence of carbohydrate and nitrogen status on adventitious rooting of stem cuttings. **New Forests**, Dordrecht, v. 24, p. 53-65, 2002.
- SILVA, M. N. das. **Enraizamento de estacas de seis espécies nativas de mata de galeria: *Bauhinia rufa* (Bong.) Steud., *Calophyllum brasiliense* Cam., *Copaifera langsdorffii* Desf., *Ingá laurina* (Sw.) Willd., *Piper arboreum* Aubl. e *Tibouchina stenocarpa* (DC.) Cogn**. 1998. 112f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade de Brasília, Brasília, 1998.
- TABARELLI, M.; MANTOVANI, W. A riqueza de espécies arbóreas na floresta atlântica de encosta de São Paulo (Brasil). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, p. 217-223, 1999.
- TCHONDJEU, Z.; AVANA, M. L.; LEAKEY, R. R. B.; SIMONS, A. J.; ASSAH, E.; DUGUMA, B.; BELL, J. M. Vegetative propagation of *Prunus africana*: effects of rooting médium, auxin concentrations and leaf area. **Agroforestry Systems**, Dordrecht, v. 54, p. 183-192, 2002.

- THIMANN, K. V.; POUTASSE, E. F. Factors affecting root formation of *Phaseolus vulgaris*. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 16, p. 585-598, 1941.
- VEIERSKOV B. Relations between carbohydrates and adventitious root formation. In: DAVIS, T.D.; HAISSIG, B.E.; SANKHLA N. **Adventitious root formation in cuttings**. Oregon: Dioscorides Press, 1988. v. 2, 315p.
- WHITE, J.; LOVELL, P.H. The anatomy of root initiation in cuttings of *Griselinia littoralis* and *Griselinia lúcida*. **Annals of Botany**, London, v. 54, p. 7-20, 1984.
- ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; RODRIGUES, J. D. **Estaquia: uma abordagem dos principais aspectos fisiológicos**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2001. 39p.