

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA GOIANO – CAMPUS RIO VERDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM  
CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**ESTRATÉGIAS PARA A PRODUÇÃO DE MUDAS DE  
GUANANDI E EUCALIPTO NO CERRADO**

Autor: Moacir Ribeiro Neto  
Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Souchie

RIO VERDE - GO  
fevereiro - 2012

# **ESTRATÉGIAS PARA A PRODUÇÃO DE MUDAS DE GUANANDI E EUCALIPTO NO CERRADO**

Autor: Moacir Ribeiro Neto  
Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Souchie

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – *campus* Rio Verde - Área de concentração Ciências Agrárias.

Rio Verde - GO  
fevereiro - 2012

R37e

RIBEIRO NETO, Moacir.

Estratégias para a produção de mudas de guanandi e eucalipto no cerrado / Moacir Ribeiro Neto – Rio Verde - GO – 2012.

65 f.: il.;

Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) apresentada ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde - 2012.

1. Espécies Florestais 2. Cerrado 3. Microorganismos

Gilmar José Terra. CRB1 2524

CDU 631.53.03

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE  
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**ESTRATÉGIAS PARA A PRODUÇÃO DE MUDAS  
DE GUANANDI E EUCALIPTO NO CERRADO.**

Autor: Moacir Ribeiro Neto  
Orientador: Dr. Edson Luiz Souchie

*TITULAÇÃO:* Mestre em Ciências Agrárias – Área de concentração  
Ciências Agrárias – Ciências Agrárias

APROVADA em 29 de fevereiro de 2012.

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Clarice Aparecida Megguer  
*Avaliadora interna*  
IF Goiano- Campus Rio Verde(Bolsista CAPES/PNPD)

Prof. Dr. Marcos Antônio Soares  
*Avaliador externo*  
UFMT- Cuiabá

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Alessandra C. B. de A. Monteiro Hara  
*Avaliadora interna*  
IF Goiano – Campus Rio Verde

Prof. Dr. Edson Luiz Souchie  
*Presidente da banca*  
IF Goiano – Campus Rio Verde

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente à minha esposa Luciana Martins Moraes, pelo incentivo do retorno aos estudos e à minha filha Laura Moraes Ribeiro, que sempre me apoia em tudo.

Ao meu orientador Edson Luiz Souchie, pelo desenrolar de todas as questões relacionadas ao mestrado e grande “chefia” nas opiniões e tomadas de decisões. Dizem que ele é “enrolado”, porém resolve. Também à coorientadora Flávia Dionísio Pereira, pela sua paciência e vontade de participar, interagir e dispor do seu conhecimento.

Às minhas colegas Cíntia de Oliveira Martendal e Mariluzza Silva Leite, pelas incansáveis contribuições durante o período do mestrado.

À Luciana Cristina Vitorino e a Isabel Cristina Mendonça Cardoso Jakoby, pela enorme contribuição no Laboratório de Microbiologia Agrícola. Com elas e os “isolados” seguimos em frente.

Aos irmãos Angus e Malcon Young bem como Phil Rudd, Brian Johnson e Cliff Williams. A música deles foi de grande contribuição para manter meu cérebro em atividade.

## BIOGRAFIA DO AUTOR

Moacir Ribeiro Neto, filho de Euripedes Ribeiro de Sousa e Glaydys Rossi Ribeiro, nasceu em Tupaciguara-MG, no ano de 1969. Sua formação profissional iniciou em 1998, no curso de Agronomia pela Universidade de Rio Verde. Em 2010, iniciou seu Mestrado em Ciências Agrárias no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde, concluindo no ano de 2012.

## ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABELAS .....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	ix
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES.....	x
RESUMO .....	xi
ABSTRACT .....	xiii
INTRODUÇÃO.....	01
OBJETIVOS GERAIS.....	09
Capítulo 1. INFLUÊNCIA DO REGULADOR DE CRESCIMENTO AIB NA FORMAÇÃO E SOBREVIVÊNCIA DE MINIESTACAS DE CLONES DE <i>EUCALYPTUS UROGRANDIS</i> I-144.....	10
Resumo .....	11
Abstract .....	11
Introdução .....	12
Material e métodos .....	13
Resultados e discussão .....	13
Conclusões .....	18
Referências bibliográficas.....	18
Capítulo 2. ESTABLISHMENT OF <i>EUCALYPTUS GRANDIS</i> W. HILL EX MAIDEN <i>IN VITRO</i> USING COMMERCIAL PRODUCTS FOR SEED TREATMENT.....	21
Abstract .....	22



Resumo.....	22
Introduction .....	23
Materials and Methods.....	26
Results and Discussion .....	27
Conclusions.....	30
References.....	30
Capítulo 3. CONCENTRAÇÕES CRESCENTES DE AIB, NA SOBREVIVÊNCIA E ENRAIZAMENTO DE MUDAS DE GUANANDI <i>IN VITRO</i> E EM VIVEIRO.....	38
Resumo .....	39
Abstract .....	39
Introdução .....	40
Material e métodos .....	41
Resultados e discussão .....	43
Conclusão .....	48
Referências bibliográficas .....	48
Capítulo 4. DESENVOLVIMENTO DE PROCESSO BIOTECNOLÓGICO PARA SOBREVIVÊNCIA E PRODUÇÃO DE MUDAS DE CLONE DE <i>EUCALYPTUS UROGRANDIS</i> CLONE I-144.....	51
Resumo .....	52
Abstract .....	52
Introdução .....	53
Material e métodos .....	55
Resultados e discussão .....	58
Conclusão.....	61
Referências bibliográficas .....	61
CONCLUSÃO GERAL .....	65

## ÍNDICE DE TABELAS

	Página
<b>Capítulo 1. Influência do regulador de crescimento AIB na formação e sobrevivência de miniestacas de clones de <i>Eucalyptus urograndis</i> I-144</b>	
<b>Tabela 1.</b> Altura (cm) de mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i> I-144, submetidas a diferentes concentrações de AIB, ao longo de 100 dias de avaliações, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO .....	15
<b>Tabela 2.</b> Número de folhas de mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i> I-144, submetidas a diferentes concentrações de AIB, ao longo de 100 dias de avaliações, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO.....	15
<b>Tabela 3.</b> Comprimento de raízes (cm) de mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i> I-144, submetidas a diferentes concentrações de AIB, ao longo de 100 dias de avaliações, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO.....	16
<b>Tabela 4.</b> Peso caule (g) de mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i> I-144, submetidas a diferentes concentrações de AIB, ao longo de 100 dias de avaliações, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO.....	16
<b>Tabela 5.</b> Peso folhas (g) de mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i> I-144, submetidas a diferentes concentrações de AIB ao longo de 100 dias de avaliações, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO.....	17
<b>Tabela 6.</b> Peso raiz (g) de mudas de <i>Eucalyptus urograndis</i> I-144, submetidas a diferentes concentrações de AIB ao longo de 100 dias de avaliações, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO.....	17

**Capítulo 2. Establishment of *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden *in vitro* using commercial products for seed treatment**

**Tabela 1.** Treatment of *Eucalyptus grandis* seeds with the products Standak Top<sup>®</sup>, CoMo Raiz<sup>®</sup>, or a combination of both, and their respective doses..... 35

**Tabela 2.** Contamination, shoot length and the number of leaves in *Eucalyptus grandis* as a function of adding Standak Top<sup>®</sup> and CoMo Raiz<sup>®</sup> to the germinating culture media..... 37

**Capítulo 4. Desenvolvimento de processo biotecnológico para sobrevivência e produção de mudas de clone de *Eucalyptus urograndis* clone I-144**

**Tabela 1.** Altura (cm) de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144, submetidas a diferentes tratamentos para enraizamento, sob condições de viveiro, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO..... 58

**Tabela 2.** Matéria fresca de folhas (g) de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144, submetidas a diferentes tratamentos para enraizamento, sob condições de viveiro, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO..... 59

**Tabela 3.** Número de folhas de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144, submetidas a diferentes tratamentos para enraizamento, sob condições de viveiro, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO..... 59

**Tabela 4.** Matéria fresca das raízes (g) de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144, submetidas a diferentes tratamentos para enraizamento, sob condições de viveiro, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO..... 59

**Tabela 5.** Matéria fresca dos caules (g) de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144, submetidas a diferentes tratamentos para enraizamento, sob condições de viveiro, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO..... 60

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
<b>Capítulo 2. Establishment of <i>Eucalyptus grandis</i> W. Hill ex Maiden <i>in vitro</i> using commercial products for seed treatment</b>	
<b>Figura 1.</b> <i>Eucalyptus grandis</i> plantlets after 30 days of culture <i>in vitro</i> with different doses of Standak Top <sup>®</sup> , CoMo Raiz <sup>®</sup> , or a combination of both.....	36
<b>Capítulo 3. Concentrações crescentes de AIB, na sobrevivência e enraizamento de mudas de guanandi <i>in vitro</i> e em viveiro</b>	
<b>Figura 1.</b> Explantes de guanandi contaminado e não contaminados, após 30 dias de cultivo <i>in vitro</i> , no IF Goiano – Campus Rio Verde-GO.....	43
<b>Figura 2.</b> Explantes de guanandi com emissão de raízes, após 60 dias de cultivo <i>in vitro</i> , no IF Goiano – Campus Rio Verde-GO.....	44
<b>Figura 3.</b> Plântulas mortas e secas de guanandi, após 30 dias de transplântio para viveiro, no IF Goiano – Campus Rio Verde-GO.....	46
<b>Figura 4.</b> Plântulas de guanandi com emissão de raízes na avaliação dos 60 dias, no IF Goiano – Campus Rio Verde-GO.....	47

## LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

$\mu\text{g}$ .....	micrograma .....	-
mg.....	miligrama .....	-
g.....	grama.....	-
mL.....	mililitro .....	-
L.....	litro .....	-
nm.....	nanômetro .....	-
mm.....	milímetro.....	-
cm.....	centímetro.....	-
$\text{cm}^3$ .....	centímetro cúbico .....	-
$\text{m}^2$ .....	metro quadrado.....	-
AIB.....	ácido indolbutírico.....	$\text{mg L}^{-1}$
$\mu\text{mol}$ .....	micromol.....	-
$\mu\text{L}$ .....	microlitro.....	-
s.....	segundos.....	-
min.....	minutos.....	-
h.....	horas.....	-
%.....	Percentual.....	-
pH.....	potencial hidrogeniônico.....	-
$^{\circ}\text{C}$ .....	graus Celsius.....	-
rpm.....	rotação por minuto.....	-

## RESUMO

RIBEIRO NETO, Moacir. M.e, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, fevereiro de 2012. **Estratégias para a produção de mudas de guanandi e eucalipto no cerrado**. Orientador: Dr. Edson Luiz Souchie. Co-orientadores: Dr. Alan Carlos Costa e Dra. Flávia Dionísio Pereira.

O cultivo de espécies florestais no Brasil, além de contribuir enormemente com o PIB, contribui satisfatoriamente com a classe trabalhadora rural, empregando e formando empresas especializadas na produção de madeira, notadamente em crescente expansão e ocupação de áreas degradadas diminuindo a depredação ambiental. Este trabalho foi desenvolvido em quatro etapas, duas delas com o clone I-144 de eucalipto (*Eucalyptus urograndis*), uma com *Eucalyptus grandis* e outra com a espécie arbórea guanandi (*Calophyllum brasiliensis*), utilizando estratégias focadas no uso de ácido indolbutírico (AIB) e de microrganismos promotores do crescimento vegetal, para maximizar a formação de mudas destas espécies. Com o primeiro estudo, objetivou-se maximizar o enraizamento de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144, com crescentes concentrações do regulador de crescimento AIB (0, 1.000, 2.000, 4.000 e 8.000 mg L<sup>-1</sup>) para incrementar o índice de sobrevivência em viveiro e otimizar sua produção e adaptação em campo. A utilização de AIB na concentração de 4.000 mg L<sup>-1</sup> é a mais indicada para favorecer o enraizamento e a formação de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144. A concentração de 8.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB, não é recomendada para o estabelecimento de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144, em viveiro. No segundo estudo, objetivou-se determinar a influência de diferentes doses de Standak Top<sup>®</sup> e CoMo Raiz<sup>®</sup> no processo de estabelecimento *in vitro*, utilizando sementes de *Eucalyptus grandis*. A utilização de Standak Top<sup>®</sup> (2 mL L<sup>-1</sup>) favorece o crescimento *in vitro* de eucalipto e inibe a

contaminação por fungos e bactérias, bem como proporciona o maior comprimento do explante e número de folhas. No terceiro estudo, objetivou-se maximizar o enraizamento de mudas de guanandi, com crescentes concentrações de AIB (0, 1.000, 2.000, 4.000 e 8.000 mg L<sup>-1</sup>), visando incrementar o índice de sobrevivência em viveiro e otimizar sua produção e adaptação em campo. Nas condições de cultivo *in vitro*, a concentração equivalente a 1.000 mg L<sup>-1</sup>, mostrou maior eficiência para favorecer o enraizamento dos explantes. No cultivo em viveiro, nenhuma das concentrações de AIB testadas exerceu efeito benéfico no enraizamento das miniestacas de guanandi. No quarto estudo, objetivou-se comparar a eficácia da inoculação de microrganismos solubilizadores de fosfato, da adição de AIB e de CoMo Raiz<sup>®</sup>, no enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus urograndis* I-44. Esse estudo confirma que a inoculação de microrganismos rizosféricos promotores do crescimento vegetal, como no caso do isolado MBSF2, traduz-se em técnica promissora no favorecimento da propagação vegetativa de espécies florestais, como o eucalipto. Os tratamentos com AIB (4.000 mg L<sup>-1</sup>) e com o produto comercial CoMo Raiz<sup>®</sup>, proporcionam resultados satisfatórios na maioria das características analisadas.

**Palavras-chave:** Espécies Florestais, Cerrado, Microrganismos

## ABSTRACT

RIBEIRO NETO, Moacir. M.e, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, (“Goiano” Federal Institute of Education, Science and Technology) february, 2012. **Strategies for production of seedlings in the cerrado eucalyptus and guanandi.** Adviser: Dr. Edson Luiz Souchie. Co-adviser: Dr. Alan Carlos Costa e Dra. Flávia Dionísio Pereira.

The forest species cultivation in Brazil increases the Gross National Product, favors the rural workers, employs and trains specialized companies for the wood production. Furthermore, land degraded areas can be used for this target reducing the environmental degradation. In this work, four trials were carried out to increase the seedling production of two tree species: *Eucalyptus* sp. and *Calophyllum brasiliense* Cambess, through the inoculation of rhizosphere microorganisms and/or phytohormone addition. The first trial aimed to increase the rooting of *Eucalyptus urograndis* I-144 using increasing concentrations of indole butyric acid (IBA: 0, 1.000, 2.000, 4.000 and 8.000 mg L<sup>-1</sup>) to improve the survival rate in the nursery and optimize their production and adaptation under field conditions. The use of IBA (4.000 mg L<sup>-1</sup>) is the best to increase rooting and seedling formation of *Eucalyptus urograndis* I-144. On the other hand, IBA at 8.000 mg L<sup>-1</sup> is not recommended for this tree species in nursery. The second trial aimed to determine the different dosages influence of the commercial products Standak Top<sup>®</sup> and CoMo Raiz<sup>®</sup> in the process of *in vitro* establishment using seeds of *Eucalyptus grandis*. Standak Top<sup>®</sup> (2 mL L<sup>-1</sup>) is the best dosage to increase the *in vitro* growth of eucalyptus (higher explant length and leave number) as well as to inhibit the fungal and bacterial contaminations. The third trial was carried out to evaluate the root increasing of *Calophyllum brasiliensis* seedlings using the same IBA concentration tested above



(second trial). Under *in vitro* conditions, 1.000 mg L<sup>-1</sup> is the best concentration to increase the explant rooting. In the nursery, any IBA concentration stimulated the rooting of *C. brasiliensis* seedlings. The last trial aimed to compare the inoculation efficacy of P-solubilizing microorganisms, the IBA and CoMo Raiz<sup>®</sup> addition on rooting of *Eucalyptus urograndis* I-44 minicuttings. The P-solubilization bacteria MBSF2 is a promising isolate to improve the eucalyptus seedling formation. Moreover, IBA (4.000 mg L<sup>-1</sup>) and CoMo Raiz<sup>®</sup> addition showed positive results in the most characteristics evaluated.

**Key words** – Florest species, Savannah, Microorganisms

## INTRODUÇÃO

O setor florestal brasileiro conta com aproximadamente 530 milhões de hectares de florestas nativas, 43,5 milhões de hectares em Unidades de Conservação Federal e 4,8 milhões de hectares de florestas plantadas com pinus, eucalipto e acácia-negra. A exploração de áreas de florestas nativas mais a exploração das florestas plantadas gera mais de 2 milhões de empregos, contribui com mais de US\$ 20 bilhões para o PIB, exporta mais de US\$ 4 bilhões (8% do agronegócio) e contribui com 3 bilhões de dólares em impostos, ao ano, arrecadados de 60.000 empresas (ALFENAS et al., 2004).

Nos últimos anos, este setor apresenta crescente demanda por produtos e subprodutos florestais, proporcionando, com isso, grande aumento das áreas reflorestadas com o plantio de espécies arbóreas exóticas de rápido crescimento. Ressaltando que os ecossistemas florestais produzem alimentos e madeira para diversas finalidades, além de ter uma série de benefícios ambientais, como a redução nos riscos de erosão do solo, a produção de água de boa qualidade para as bacias hidrográficas e o abrigo de aproximadamente 2/3 da biodiversidade terrestre conhecida (SCARPINELLA, 2002).

Atualmente, a procura por mudas de espécies florestais nativas tem crescido no Brasil por causa da necessidade de reflorestamento. Muitos projetos de reflorestamento têm explorado o potencial das espécies nativas regionais, supostamente melhor adaptadas às condições edafoclimáticas, que facilita o restabelecimento entre a fauna e a flora (FERNANDES et al., 2000).

O guanandi (*Calophyllum brasiliense* Cambess) é uma espécie arbórea que ocorre naturalmente desde a América Central até a América do Sul. No Brasil, tem alto

valor econômico em virtude de sua larga utilização para os mais diversos fins, tais como construção civil, marcenaria e construção naval (LORENZI, 1992).

O guanandi é uma espécie arbórea considerada clímax por demonstrar regeneração abundante na sombra. O valor de sua madeira é conhecido por ser resistente à água, ter boa durabilidade e ter características semelhantes ao mogno (CARVALHO, 2003). Ela está na lista de espécies florestais tropicais que devem ser consideradas em programas de conservação de recursos genéticos “*in situ*” e “*ex situ*”, de acordo com CARVALHO (2003).

Já o eucalipto é a espécie florestal mais utilizada para o reflorestamento, sendo adaptada às condições edafoclimáticas brasileiras e é utilizada para variados fins, como produção de celulose, madeira para construção, energia para agroindústrias e produção de biocombustível. Além disso, vários trabalhos são desenvolvidos para aprimorar os métodos de sua propagação (ASSIS & MAFIA, 2007).

Reflorestamento de alta produtividade, com madeira de boa qualidade, a um custo compatível depende diretamente da qualidade das mudas produzidas. Nesse sentido, o primeiro passo a ser dado é a produção de mudas que possuam características que propiciem uma boa sobrevivência no campo e garantam um rápido crescimento da floresta (GOMES et al., 2002). Ressaltando que o potencial genético, as condições fitossanitárias e a conformação do sistema radicular são características importantes para garantir a boa produtividade dos povoamentos florestais (CARVALHO, 1992).

A utilização da reprodução vegetativa em silvicultura vem assumindo um papel cada vez mais relevante. A multiplicação de espécies arbóreas por estacas tem grande aplicação na formação dos clones de características desejáveis. O uso econômico da propagação vegetativa na produção de mudas para o setor florestal é justificado quando há disponibilidade de genótipos de alta produtividade e/ou, a semente é insumo limitante (XAVIER et al., 2003). No entanto, processos de propagação de mudas por propagação vegetativa e posterior estabelecimento em plantios comerciais destas espécies são escassos na literatura (XAVIER et al., 2003).

Na produção de mudas de eucalipto, a propagação vegetativa por estaquia é, ainda, a técnica de maior viabilidade econômica para o estabelecimento de plantios clonais, por permitir a multiplicação de genótipos selecionados a um custo menor e em curto período de tempo (PAIVA & GOMES, 1995).

A estaquia é um método bastante difundido dentro da propagação vegetativa, permitindo a obtenção de plantas em grande quantidade, de forma rápida e em

diferentes épocas do ano, a partir de plantas-matrizes selecionadas, mantendo as características desejáveis da mesma (BORDIN et al., 2005). No entanto, a viabilidade desta técnica varia conforme a espécie (FACHINELLO et al., 2005).

No processo de propagação, aplicações de reguladores de crescimento têm possibilitado o enraizamento de propágulos vegetativos, sendo que o ácido indolbutírico (AIB) é o mais utilizado (BRONDANI et al., 2008). Outro fator que afeta o enraizamento é o tipo da estaca utilizada, há uma variação fisiológica ao longo do ramo, uma vez que estacas provenientes de diferentes porções do mesmo ramo tendem a diferir quanto ao enraizamento (FACHINELLO et al. 2005).

A utilização de plantas associadas a microrganismos para a revegetação de áreas degradadas tem sido indicada como uma tecnologia ecológica e economicamente viável. A inoculação de microrganismos benéficos em plantas é empregada para melhorar seu desenvolvimento (CARAVACA et al., 2002). Esses microrganismos podem beneficiar o desenvolvimento das mudas em viveiro, diminuindo o tempo de produção de mudas e maximizando sua capacidade de estabelecimento em campo (CARAVACA et al., 2002; SOUCHIE et al.; 2005).

Dentre os diversos fatores que podem influenciar a taxa de enraizamento e sobrevivência das mudas, o substrato e a utilização de substâncias como reguladores de crescimento e microrganismos promotores do crescimento vegetal e ou a associação entre eles, pode ser estratégica (SILVEIRA, 2008).

Na rizosfera, que é a zona de influência das raízes que vai desde sua superfície até uma distância de 1 a 3 mm (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006), há vários grupos microbianos capazes de incrementar o desenvolvimento vegetal. Dentre eles, estão as rizobactérias que, quando associadas às plantas, maximizam a área radicular. Esse aumento na superfície radicular promove uma maior eficiência na absorção de água, macro e micronutrientes pelas plantas. Essas bactérias são chamadas de “Plant Growth Promoting Rhizobacteria” (PGPR) (SILVEIRA, 2008).

Além da produção ou alteração nos níveis dos reguladores de crescimento, as rizobactérias podem promover o crescimento pelo biocontrole de doenças ou inibição de microrganismos deletérios ao desenvolvimento vegetal, seja pela competição por espaço e nutrientes, produção de sideróforos, antibióticos e compostos voláteis, sem contar ainda, a habilidade em liberar nutrientes do solo pela produção de enzimas, como fosfatases, sulfatases etc (GRAY & SMITH, 2005).

A dificuldade de enraizamento das estacas de algumas espécies envolvendo a participação tanto de fatores relacionados à própria planta como também ao ambiente, constitui um dos mais sérios problemas para a produção de mudas (GONTIJO et al., 2003), que pode ser superado se fornecidas condições ótimas para seu enraizamento (OLIVEIRA, 2000).

No solo, existe um grande número de bactérias que se localizam na rizosfera e, aproximadamente, 7 a 15% da superfície total das raízes é ocupada por estas células microbianas (GRAY & SMITH, 2005). Entre as auxinas, o ácido indolacético (AIA), é o mais estudado e o mais produzido pelas bactérias e fungos do solo. Essa substância afeta a morfologia das raízes, aumentando sua extensão e número de pelos radiculares (BARBIERI et al., 1986).

Outros fitohormônios que estimulam o desenvolvimento vegetal também foram encontrados como metabólitos bacterianos, por exemplo, a citocinina e a giberelina (GRAY & SMITH, 2005). Os mecanismos envolvidos na promoção de crescimento induzido por rizobactérias promotoras de crescimento não são totalmente conhecidos. No entanto, incluem a habilidade de produzir ou mudar a concentração de fitormônios como AIA, ácido giberélico, citocininas e etileno (GRAY & SMITH, 2005).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A.C. et al. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa, MG: UFV, 2004. 442p.

ASSIS, T.F.; MAFIA, R.G. Hibridação e clonagem. In: BORÉM, A. **Biotecnologia Florestal**. Viçosa: UFV, 2007. p. 93-127.

BARBIERI, P. et al. Wheat inoculation with *Azospirillum brasiliense* Sp6 and some mutants altered in nitrogen fixation and índole-3-acetic acid production. **FEMS Microbiology Letters**, v.36, p.87-90, 1986.

BORDIN, I. et al. Efeito da presença da folha no enraizamento de estacas semilenhosas de porta-enxertos de videira. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n.1, p. 215-218, 2005. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782005000100035](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782005000100035)>. Acesso em: 18 jan. 2012. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782005000100035>.

BRONDANI G.E. et al. Ácido indolbutírico em gel para enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus benthamii* Maiden e Cambage x *Eucalyptus dunnii* Maiden. **Scientia Agrária**, Curitiba. v.9, n.2, p.153-158, 2008. Disponível em: <<http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2902599>>. Acesso em: 15 out. 2011.

CARAVACA, F. et al. Assessing the effectiveness of mycorrhizal inoculation and soil compost addition for enhancing reforestation with *olea europea susbs sylvestris* through changes in soil biological and physical parameters. **Applied Soil Ecology**, v.20, p.107-118, 2002.

CARVALHO, C.M. Produção de mudas de espécies florestais de rápido crescimento. In: NOVAES, A. B. et al. **Reflorestamento no Brasil**. Vitória da Conquista-BA, UESB, 1992. p. 93-103.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, 2003. p. 485-494.

FERNANDES, L.A. et al. Crescimento inicial, níveis críticos de fósforo e frações fosfatadas em espécies florestais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, p.1191-

1198, 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pab/v35n6/4675.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2012.

FACHINELLO J.C. et al. **Propagação de plantas frutíferas**. Embrapa Informações Tecnológicas, Brasília. 2005. p.221.

GOMES, J.M. et al. Parâmetros morfológicos na avaliação da qualidade de mudas de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v.26, n.6, p.655-664, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rarv/v26n6/a02v26n6.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2012:

GONTIJO, T.C. A. et al. Enraizamento de diferentes tipos de estacas de aceroleira utilizando ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.2, ago. 2003. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-29452003000200027&script=sci\\_abstract&tlng=es](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-29452003000200027&script=sci_abstract&tlng=es). Acesso em: 10 dez. 2011. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452003000200027>.

GRAY, E.J.; SMITH, D.L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. **Soil Biology And Biochemistry** v.37, p.395-412, 2005.

LORENZI H. **Árvores, brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum. 1992. 352p.

MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. Rizosfera In: MOREIRA, F. M. S. & SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2ª edição atualizada e ampliada. Lavras, Editora UFLA, 2006. P.407-447.

OLIVEIRA, J.A. **Efeito dos substratos artificiais no enraizamento e no desenvolvimento de maracujazeiro-azedo e doce por estaquia**. 2000. 71f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade de Brasília.

PAIVA, H.N.; GOMES, J.M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Viçosa: UFV, 1995. 40p.

SCARPINELLA, G.D.A. **Reflorestamento no Brasil e protocolo de Quioto**. 2002. 78f. Dissertação (Mestrado em Interunidades em Energia) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

SILVEIRA, E.L. **Inoculações de bactérias promotoras de crescimento no cultivo de arroz em solução nutritiva**. 2008. 83f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

SOUCHIE, E.L. et al. Mudanças de espécies arbóreas inoculadas com bactérias solubilizadoras de fosfato e fungos micorrízicos arbusculares. **Floresta**, v.35, p.329-334, 2005. Disponível em: <http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/floresta/article/viewFile/4620/3567>. Acesso em: 08 dez. 2011.



XAVIER A. et al. Propagação vegetativa de cedro-rosa por miniestaquia. **Revista**  
**Árvore**, v.27, n.2, p.139-143, 2003. Disponível em:  
<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-67622003000200003](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622003000200003)>.  
Acesso em: 20 jan. 2012. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622003000200003>.

## OBJETIVOS GERAIS

1 - Maximizar o enraizamento de mudas de guanandi e eucalipto, visando atingir alto índice de sobrevivência em viveiro, otimizar sua produção e adaptação em nível de campo.

2 - Avaliar o comportamento das mudas de guanandi e eucalipto tratadas com reguladores de crescimento ou inoculadas com microrganismos promotores de crescimento.

3 - Analisar o efeito da aplicação de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) no enraizamento de miniestacas de eucalipto e guanandi.

4 – Avaliar o efeito do produto comercial CoMo Raiz<sup>®</sup>, composto de cobalto, molibdênio e giberelina no enraizamento de miniestacas de guanandi e eucalipto.

5 - Quantificar a produção de AIA por bactérias e fungos rizosféricos e avaliar seu efeito no enraizamento das miniestacas de guanandi e eucalipto.

6 - Determinar o índice de sobrevivência em viveiro de mudas de eucalipto e guanandi, sob distintos tratamentos para maximizar seu enraizamento.

## **CAPÍTULO 1**

### **INFLUÊNCIA DO REGULADOR DE CRESCIMENTO AIB NA FORMAÇÃO E SOBREVIVÊNCIA DE MINISTACAS DE CLONES DE *Eucalyptus urograndis* I-144**

## **Influência do regulador de crescimento AIB na formação e sobrevivência de miniestacas de clones de *Eucalyptus urograndis* I-144**

**Resumo** - A propagação de clones de *Eucalyptus urograndis* I-144 por meio de miniestacas é dificultada pela alta mortalidade das mudas em viveiro. Para isso, objetivou-se determinar o efeito de diferentes doses do regulador de crescimento AIB (0, 1.000, 2.000, 4.000 e 8.000 mg L<sup>-1</sup>) no processo de estabelecimento de mudas em viveiro, utilizando miniestacas do clone I-144 (*Eucalyptus urograndis*), na Fazenda Florestal II da COMIGO. As miniestacas foram tratadas, durante 10 segundos, nas concentrações do regulador de crescimento AIB. As avaliações foram realizadas aos 20, 40, 60, 80 e 100 dias, determinando a altura da parte aérea, número de folhas e comprimento das raízes. A concentração mais alta do regulador de crescimento AIB (8.000 mg L<sup>-1</sup>) se caracterizou como fitotóxica. Já a concentração de 4.000 mg L<sup>-1</sup> favoreceu os melhores resultados de crescimento desta espécie arbórea.

**Palavras-chave:** propagação vegetativa, miniestaquia, silvicultura.

**Abstract** - The spread of *Eucalyptus urograndis* I-144 clones through minicuttings is hampered due to high mortality of seedlings in nurseries. Considering this the objective was to determine the different doses effect of growth regulator IBA (0, 1.000, 2.000, 4.000 and 8.000 mg L<sup>-1</sup>) in the process of establishment of seedlings in nurseries, using mini-cuttings of *Eucalyptus urograndis* I-144 clone in Farm Forestry ME II. The mini-cuttings were treated for 10 seconds, in the concentrations of growth regulator IBA. Evaluations were performed at 20, 40, 60, 80 and 100 days, determining the seedlings height, leaf number and length of roots. The highest concentration of growth regulator IBA (8000 mg L<sup>-1</sup>), was characterized as phytotoxic. The concentration of 4000 mg L<sup>-1</sup> the favored the best growth results this tree species.

**Key words** – vegetative propagation, minicuttings, silviculture.

## INTRODUÇÃO

O eucalipto é a espécie florestal mais utilizada para o reflorestamento, sendo adaptada às condições edafoclimáticas brasileiras e utilizada para variados fins, como produção de celulose, madeira para construção, energia para agroindústrias e produção de biocombustível e vários trabalhos têm sido desenvolvidos para aprimorar os métodos de sua propagação (ASSIS; MAFIA, 2007).

A estaquia é um método bastante difundido dentro da propagação vegetativa que permite a obtenção de plantas em grande quantidade, de forma rápida, e em diferentes épocas do ano, a partir de plantas-matrizes selecionadas (BORDIN et al., 2005). No entanto, a viabilidade desta técnica varia conforme a espécie (FACHINELLO et al., 2005).

No processo de propagação de eucalipto, aplicações de reguladores de crescimento têm possibilitado o enraizamento de propágulos vegetativos, sendo que o ácido indolbutírico (AIB) tem sido o mais utilizado (BRONDANI et al., 2008).

A dificuldade de enraizamento das estacas de algumas espécies, envolvendo a participação tanto de fatores relacionados à própria planta como também do ambiente, constitui um dos mais sérios problemas para a produção de mudas (GONTIJO et al., 2003). Entretanto, esses podem ser superados se fornecidas as condições ótimas para seu enraizamento (OLIVEIRA, 2000).

As auxinas são uma classe de reguladores vegetais muito importantes para o sucesso da propagação vegetativa, principalmente em espécies de difícil enraizamento (SOUZA, 2007). No entanto, as auxinas têm apresentado efeitos diretos e significativos no curso desse processo, mas na propagação de *Eucalyptus* spp. por estaquia, o regulador de crescimento de maior uso tem sido o AIB. Segundo Trevisan et al. (2008), a aplicação exógena de AIB possibilita o aumento da capacidade de enraizamento de estacas de espécies de difícil enraizamento.

Objetivou-se com esse trabalho determinar a influência de concentrações crescentes de AIB na formação de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144, visando incrementar seu índice de sobrevivência em viveiro.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido na Fazenda Florestal II da Cooperativa Agroindustrial dos Produtores Rurais do Sudoeste Goiano (COMIGO – Ltda), no município de Rio Verde, GO.

As miniestacas foram coletadas de plantas-matrizes que apresentavam bom desenvolvimento e ótimo aspecto fitossanitário. Posteriormente, em local sombreado, estas foram padronizadas para 10 cm de altura e diâmetro inferior a 0,8 cm, mantendo um par de folhas em cada uma. Em seguida, foram imersas em concentrações crescentes de AIB (0, 1.000, 2.000, 4.000 e 8.000 mg L<sup>-1</sup>), durante 10 segundos. Após tratadas, as miniestacas foram plantadas em tubetes de 300 cm<sup>3</sup> contendo o substrato Plantmax<sup>®</sup> e transferidas para casa de vegetação revestida com sombrite 80%. A irrigação foi feita por nebulização, durante 10 segundos a cada 10 minutos.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente ao acaso, esquema fatorial, com parcelas subdivididas no tempo (cinco avaliações), constituídos de cinco concentrações de AIB (0, 1.000, 2.000, 4.000 e 8.000 mg L<sup>-1</sup>), com 10 repetições. Para cada concentração de AIB, foram cultivadas 100 miniestacas, totalizando 500, para determinação do índice de sobrevivência.

As plantas foram mantidas em casa de vegetação até 30 dias. Em seguida, foram levadas para céu aberto, até aos 100 dias de cultivo, sendo realizada a última avaliação. Dez plantas de cada tratamento foram avaliadas, a cada 20 dias, durante 100 dias, quanto ao número de folhas por planta, altura da parte aérea, peso de folhas, comprimento e peso das raízes, massa fresca de caule e sobrevivência. As plantas foram colhidas, lavadas em água corrente e, em seguida, realizados os procedimentos de avaliações. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey (5%), utilizando o software ASSISTAT.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A utilização do regulador de crescimento AIB, na concentração de 4.000 mg L<sup>-1</sup> propiciou maior número de folhas, altura de parte aérea e comprimento de raízes (Tabela 1, 2 e 3). A partir da quarta avaliação, as mudas do tratamento com 4.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB, demonstraram altura adequada para transplântio a campo. A altura é

considerada um dos parâmetros mais antigos na classificação e seleção de mudas nos viveiros (GOMES, 1987), sendo considerada relevante para estimar o potencial de desenvolvimento das plantas no campo (REIS, 1991; CARNEIRO, 1995).

De acordo com LANA et al. (2008), a utilização de fitorregulador, em qualquer concentração e forma de aplicação, não interferiu na biomassa seca da parte aérea e das raízes de eucalipto. Ao contrário, GONTIJO et al. (2003) relatam o efeito positivo da aplicação de AIB no aumento da biomassa seca das raízes de aceroleira. PASQUAL et al. (2001) concluíram que o tratamento com auxinas, em especial o AIB, na base das estacas de eucalipto, propicia efeitos benéficos no peso e qualidade do sistema radicular. Em outros trabalhos, porém, têm sido observadas respostas diferenciadas entre cultivares quanto ao efeito do AIB na capacidade de formar raízes adventícias em estacas. Uma das principais explicações para este comportamento é a constituição genética das cultivares que resultaria nesse potencial de enraizamento diferenciado entre elas. Segundo LANA et al. (2008), as maiores biomassas verdes da parte aérea de eucalipto foram obtidas com as menores concentrações de AIB (2.000 e 5.000 mg L<sup>-1</sup>) aplicados na forma de pasta. Segundo esses autores, quando comparados com os formulados aplicados na forma de pó seco, as formulações em pasta são caracterizadas por uma melhor cobertura e aderência à superfície vegetal, o que otimiza a absorção da substância ativa, além da perda durante o manuseio ser praticamente nula.

Observa-se na Tabela 2, que quanto ao número de folhas, só houve diferenças entre os tratamentos a partir dos 80 dias, em que o tratamento com 4.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB possibilitou maior número de folhas, superando os demais até a última avaliação (100 dias). Contudo, foi percebido um decréscimo no número de folhas entre 60 e 80 dias em todos os tratamentos, exceto no de 4.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB.

De acordo Hartmann et al. (2002), a aplicação de auxinas em estacas, ao aumentar sua concentração, produz efeito estimulador na indução de raízes até um ponto máximo, a partir do qual qualquer acréscimo do nível de auxina se torna inibitório. Ao analisar os resultados de enraizamento das miniestacas, foram observados, em todos os clones, resultados semelhantes aos encontrados na saída da casa de vegetação utilizando AIB e ANA, não sendo verificadas diferenças entre os reguladores de crescimento quanto ao enraizamento (GOULART, et al., 2008).

A Tabela 3 demonstra que aos 100 dias não houve diferença entre os tratamentos com 4.000 e 8.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB, em que esses tratamentos se diferenciaram dos demais por favorecer maior comprimento de raízes. No entanto, não há necessidade de

dobrar a concentração do regulador de crescimento. Todavia, esse resultado isolado não representa por si só a melhor aptidão da muda para plantio, devendo estar relacionado com o maior número de folhas (Tabela 2) e maior altura (Tabela 1).

**Tabela 1 – Altura (cm) de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144, submetidas a diferentes concentrações de AIB, ao longo de 100 dias de avaliações, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO.**

Concentração de AIB	Épocas de Avaliações				
	20	40	60	80	100
0	9,7 Ab	12,4 bcB	25,4 aA	23,0 cA	23,4 cA
1.000	8,7aD	16,7 aC	21,6 aB	28,2 bA	29,3 bA
2.000	8,0 aD	12,9 abcC	21,5 aB	23,8 cAB	26,9 bcA
4.000	9,0 aE	15,0 abD	23,8 aC	34,5 aB	46,6 aA
8.000	8,4 aD	10,5 cD	23,0 aC	35,4 aB	46,0 aA

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

**Tabela 2 – Número de folhas de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144, submetidas a diferentes concentrações de AIB, ao longo de 100 dias de avaliações, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO.**

Concentração de AIB	Épocas de Avaliações				
	20	40	60	80	100
0	4,6 aB	14,0 aA	16,1 aA	13,7 abA	18,1 bA
1.000	4,3 aC	15,3 aAB	16,7 aAB	11,4 bB	19,9 bA
2.000	4,4 aC	13,6 aB	17,5 aAB	13,1 bB	20,2 bA
4.000	5,7 aC	17,0 aB	18,7 aB	18,7 aB	31,2 aA
8.000	4,5 aC	15,1 aAB	17,7 Aa	11,7 bB	20,2 bA

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).



**Tabela 3 – Comprimento de raízes (cm) de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144, submetidas a diferentes concentrações de AIB, ao longo de 100 dias de avaliações, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO.**

Concentração de AIB	Épocas de Avaliações				
	20	40	60	80	100
0	7,3 bC	13,7 bB	12,7 bB	12,5 cB	16,4 bA
1.000	7,6 bC	12,6 bB	11,7 bB	11,9 cB	18,0 bA
2.000	9,3 abC	12,6 bB	11,5 bBC	12,6 cB	18,0 bA
4.000	10,2 aC	21,1 aB	24,7 aA	23,1 aAB	25,0 aA
8.000	8,8 abD	13,0 bC	22,8 aA	16,8 bB	25,0 aA

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

**Tabela 4 – Peso caule (g) de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144, submetidas a diferentes concentrações de AIB, ao longo de 100 dias de avaliações, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO.**

Concentração de AIB	Épocas de Avaliações				
	20	40	60	80	100
0	0,18 aC	0,37 aC	0,95 cB	0,89 cB	1,91 cA
1.000	0,18 aD	0,38 aC	0,82 cC	1,32 bB	2,47 bA
2.000	0,16 aD	0,42 aCD	0,67 cC	1,26 bB	2,07 cA
4.000	0,26 aE	0,59 aD	1,85 aC	2,54 aB	3,85 aA
8.000	0,15 aC	0,27 aC	1,50 bB	1,37 bB	2,50 bA

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

**Tabela 5 – Peso folhas (g) de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144, submetidas a diferentes concentrações de AIB ao longo de 100 dias de avaliações, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO.**

Concentração de AIB	Épocas de Avaliações				
	20	40	60	80	100
0	0,35 aB	0,65 bB	1,66 abA	1,82 bA	1,85 cA
1.000	0,37 aC	1,06 bB	1,33 bcB	2,25 bA	2,30 bcA
2.000	0,36 aC	0,73 bBC	1,10 cB	1,94 bA	2,29 bcA
4.000	0,47 aD	1,62 aC	2,00 aC	2,84 aB	3,70 aA
8.000	0,35 aB	0,64 bB	2,04 aA	2,12 bA	2,50 bA

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

**Tabela 6 – Peso raiz (g) de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144, submetidas a diferentes concentrações de AIB ao longo de 100 dias de avaliações, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO.**

Concentração de AIB.	Épocas de Avaliações				
	20	40	60	80	100
0	0,07 aB	1,44 aB	21,72 bcA	25,15 cA	26,00 cdA
1.000	0,06 aC	2,95 aC	22,92 bB	34,06 abA	33,60 bA
2.000	0,12 aC	1,70 aC	15,63 cB	30,09 bcA	32,10 bcA
4.000	0,36 aD	3,02 aD	32,60 aC	39,70 aB	47,80 aA
8.000	0,12 aC	1,12 aC	18,10 bcB	18,2 dB	24,70 dA

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

Os percentuais de mortalidade foram 44, 31, 21, 11 e 48%, para as concentrações de 0, 1000, 2000, 4000 e 8000 mg L<sup>-1</sup> de AIB respectivamente. Este percentual no tratamento com 8.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB foi maior que nos demais, ocasionando sensibilidade das mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144 as altas concentrações desse regulador de crescimento (resultados não mostrados), porém, no tratamento com 4.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB foi observada a menor mortalidade. Segundo OLIVEIRA et al. (2003), as melhores concentrações de AIB, para enraizamento de estacas de pessegueiro, foram 2.000 e 5.000 mg L<sup>-1</sup>, que não diferiram entre si. Já o uso de 8.000 mg L<sup>-1</sup> induziu a um decréscimo na biomassa da parte aérea de raízes,

indicando um possível problema de sensibilidade (toxicidade ao enraizamento das estacas) da espécie as altas concentrações de AIB. Desta forma, esses autores recomendam o uso de 2.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB. A concentração ótima do fitorregulador é variável de acordo com a espécie, cultivar e tipo de estaca utilizada.

## CONCLUSÕES

A utilização do regulador de crescimento AIB na concentração de 4.000 mg L<sup>-1</sup> é a mais indicada para favorecer a formação de mudas e manutenção de sobrevivência em viveiro de *Eucalyptus urograndis* I-144.

A concentração de 8.000 mg L<sup>-1</sup> do regulador de crescimento AIB, não é recomendada para o estabelecimento de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144 em viveiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSIS, T.F.; MAFIA, R.G. Hibridação e clonagem. In: BOREM, A. (ed.) **Biotecnologia florestal**. Viçosa: UFV. 2007. p. 93-121.

BORDIN, I.; HIDALGO, P.C.; BURKLE, R.; ROBERTO, S.R. Efeito da presença da folha no enraizamento de estacas semilenhosas de porta-enxertos de videira. **Ciência Rural**, v. 35, p. 215-218, 2005.

BRONDANI, G.E.; WENDLING, I.; ARAUJO, M.A.; PIRES, P.P. Ácido indolbutírico em gel para enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus benthamii* Maiden e Cambage x *Eucalyptus dunnii* Maiden. **Scientia Agrária**, v. 9, p.153-158, 2008.

CARNEIRO, J.G.A. **Produção e controle de qualidade de mudas florestais**. Curitiba: UFPR/FUPEF, 1995.

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

GOMES, A.L. Propagação Clonal: princípios e particularidades. **Vila Real:** Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 1987. 69 p. (Série Didáctica, Ciências Aplicadas, 1).

GONTIJO, T.C.A.; RAMOS, J.D.; MENDONÇA, V.; PIO R.; NETO, S.E.A; CORREA, F.L.O. Enraizamento de diferentes tipos de estacas de aceroleira utilizando ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, p. 290-292, 2003.

GOULART, P.B.; XAVIER, A.; CARDOSO, N.Z. Efeito dos reguladores de crescimento AIB e ANA no enraizamento de miniestacas de clones *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*. **Revista Árvore**, v. 32, p.1051-1058, 2008.

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

LANA, R.M.Q.; LANA, A.M.Q.; BARREIRA, S.; MORAIS, T.R.; FARIA, M.V. Doses do ácido indolbutírico no enraizamento e crescimento de estacas de eucalipto (*Eucalyptus urophylla*). **Bioscience Journal**, v. 24, p. 13-18, 2008.

OLIVEIRA, J.A. Efeito dos substratos artificiais no enraizamento e no desenvolvimento de maracujazeiro-azedo e doce por estaquia, 2000. 71f. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia) Universidade de Brasília, Brasília, 2000.

OLIVEIRA, A.P.; NIENOW, A.A.; CALVETE, E.O. Capacidade de enraizamento de estacas semilenhosas e de cultivares de pessegueiro tratadas com AIB. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, p. 282-285, 2003.

PASQUAL, M.; CHALFUN, N.N.J.; RAMOS, J.D.; VALE, M.R. do; SILVA, C.R. Fruticultura Comercial: **Propagação de plantas frutíferas**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 137p.

REIS, M.G.F. Crescimento e forma de fuste de mudas de jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* Fr. Allem.) sob diferentes níveis de sombreamento e tempo de cobertura. **Revista Árvore**, v. 15, p. 23-34, 1991.

SOUZA, J.L. **Tipo de minijardim clonal e efeito do ácido indolbutírico na miniestaquia de *Grevillea robusta* A. Cunn. (Proteaceae)**. 2007. 66 f. Dissertação (Mestrado) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

TREVISAN, R.; FRANZON, R.C.; NETO, R.F.; GONÇALVES, R.S.; GONÇALVES, E.D.; ANTUNES, L.E.C. Enraizamento de estacas herbáceas de mirtilo: influência da lesão na base e do ácido indolbutírico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 402-406, 2008.

## **CAPÍTULO 2**

**ESTABLISHMENT OF *EUCALYPTUS GRANDIS* W. HILL EX  
MAIDEN *IN VITRO* USING COMMERCIAL PRODUCTS FOR  
SEED TREATMENT**

**ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE *EUCALYPTUS GRANDIS* W.  
HILL EX MAIDEN COM A UTILIZAÇÃO DE PRODUTOS  
COMERCIAIS PARA TRATAMENTO DE SEMENTES**

**Establishment of *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden *in vitro* using commercial products for seed treatment**

**Estabelecimento *in vitro* de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden com a utilização de produtos comerciais para tratamento de sementes**

**(Artigo Científico)**

**ABSTRACT**

Given the current demand for timber from forest species, there is a need to develop new strategies for the mass propagation of eucalyptus. Therefore, this study aimed to determine the effect of different doses of Standak Top<sup>®</sup> and CoMo Raiz<sup>®</sup> on the establishment of *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden from seeds *in vitro*. The experimental design was completely randomized in a 4 x 3 + 1 factorial arrangement (four concentrations: 1, 2, 3, and 4 mL of the commercial products Standak Top<sup>®</sup>, CoMo Raiz<sup>®</sup>, a mixture of both, and a control treatment) with 20 replicates. The following characteristics were evaluated: contamination level, shoot length, and the number of leaves. No contamination was observed for the different doses of Standak Top<sup>®</sup>. Additions of 1 to 3 mL of Standak Top<sup>®</sup> to the culture media yielded the greatest shoot length, and the additions of 2 to 3 mL yielded the greatest number of leaves. Mixing Standak Top<sup>®</sup> and CoMo Raiz<sup>®</sup> did not significantly enhance the measured characteristics.

**KEY-WORDS:** Standak Top<sup>®</sup>, CoMo Raiz<sup>®</sup>, tissue culture, asepsis, culture media.

**RESUMO**

Considerando a atual demanda pela madeira de espécies florestais, tem-se a necessidade de se desenvolver estratégias para multiplicação massal de eucalipto. Para isso, objetivou-se determinar a influência de diferentes doses de Standak Top<sup>®</sup> e CoMo

Raiz<sup>®</sup> no processo de estabelecimento *in vitro* de sementes de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 4x3+1 (quatro concentrações: 1, 2, 3 e 4 mL; três suplementos: Standak Top<sup>®</sup>, CoMo Raiz<sup>®</sup> e a interação entre os dois e o tratamento controle), totalizando 13 tratamentos, com 20 repetições. Foram avaliados a contaminação, comprimento da parte aérea do explante e o número de folhas. Não houve contaminação com a utilização das diferentes doses de Standak Top<sup>®</sup>, sendo que a adição de 1 a 3mL deste produto no meio de cultivo proporcionaram o melhor comprimento da parte aérea do explante e a adição de 2 a 3mL, o maior número de folhas. A interação Standak Top<sup>®</sup> e CoMo Raiz<sup>®</sup> não incrementou as características avaliadas.

**PALAVRAS CHAVE:** Standak Top<sup>®</sup>, CoMo Raiz<sup>®</sup>, cultura de tecidos, assepsia e meio de cultivo.

## **INTRODUCTION**

In Brazil, eucalyptus plants are used primarily as raw material for industries that produce products such as pulp and paper, vegetable coal, poles, fences, and lumber. The production of eucalyptus plants is performed mainly through cloning, which ensures a full retention of the characteristics of selected elite plants and the establishment of uniform high-productivity plots that are disease resistant (ALFENAS et al., 2004).

Among the various cloning methods, *in vitro* propagation has been successfully used and has been shown to be capable of producing large quantities of new plants from a single explant in a short period of time. Periodic *in vitro* subcultures can be used to reduce the time needed for plantlets to become available (XAVIER, 2007; XAVIER et



al., 2009). In this context, micropropagation is a viable option for *Eucalyptus* ssp. propagation due to its advantages over other methods, including a higher multiplication rate, less required physical space, an absence of contaminants and diseases during *in vitro* culture, and more effective control of the factors that are involved (HIGASHI et al., 2002).

In addition to the previously mentioned advantages, ASSIS & MAFIA (2007) suggested using eucalyptus micropropagation to rejuvenate selected clones of species and hybrids that have a high commercial value but are difficult to root. DUTRA et al. (2009) claimed that some companies use the micropropagated seedlings as an option to obtain better plant material or to supply clonal mini- or microgardens.

However, forest species are typically difficult to establish *in vitro* due to contaminating agents (COUTO et al., 2004). Several factors must be considered to obtain satisfactory explant decontamination, including the type and age of the material, the type and concentration of the disinfectant, and the duration of explant exposure to the agent (SMITH, 2000).

The fungicides most commonly used for *in vitro* disinfection are azoxystrobin, triadimenol, boscalid, pyraclostrobin, carbendazim, tetraconazole, tebuconazole, epoxiconazole + pyraclostrobin, and epoxiconazole. Fungicide concentrations range from 0.1 to 1000  $\mu\text{g}$  of active ingredient (a.i.)  $\text{mL L}^{-1}$ . The most commonly used antibiotics are ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, and tetracycline. Antibiotic concentrations range from 32 to 256  $\text{mg L}^{-1}$  (PEREIRA et al., 2009).

Sodium hypochlorite (5%) has been commonly recommended for disinfection to control contamination of the seeds by fungi and bacteria (TITON et al., 2007; BRAVO, 2008). The same procedure was also recommended by BRONDANI (2009). CORREA

et al. (2005) suggested using 0.5% active chlorine to disinfect explants because this is a key factor for the remaining steps of *in vitro* establishment.

*In vitro* studies to evaluate the disinfection efficacy of commercial products, like Standak Top<sup>®</sup> and CoMo Raiz<sup>®</sup>, are interest in order to reduce the production cost and the negative environmental impacts of their use on plant propagation research. Standak Top<sup>®</sup> is used for seed treatment, which contains fipronil, thiophanate-methyl, and pyraclostrobin. This formulation is widely used due to its proven phytosanitary action against fungi (protective and anti-sporulating effect). Moreover, its formula acts on cellular respiration, on mitochondria, and on cytochrome Bc<sub>1</sub>, transiently interfering with the electron transport chain and, consequently, enhancing CO<sub>2</sub> utilization. Additionally, this product reduces energy expenditure, which results in a greater accumulation of carbohydrates (increased net photosynthesis), increased nitrate reductase activity and chlorophyll content, reduced stress associated with decreased ethylene synthesis, and greater foliar longevity (OLIVEIRA, 2005). CoMo Raiz<sup>®</sup> is also used to treat seeds and contains the micronutrients cobalt and molybdenum as well as the growth regulator gibberellin. CoMo Raiz<sup>®</sup> is used in many cultures because it stimulates germination, rooting and plant growth. The possible effects induced from both commercial products can improve the seedling performance under *in vitro* propagation conditions

This study aimed to determine the effect of different doses of Standak Top<sup>®</sup> and CoMo Raiz<sup>®</sup> on the establishment of *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden from seeds *in vitro*.

## MATERIALS AND METHODS

The plant material used for the *in vitro* propagation of *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden were seeds collected in 2010 and provided by the Agroindustrial Cooperative of Rural Producers from Southwest Goiás (COMIGO Inc.). The experiments were conducted at the Plant Tissue Culture Laboratory of the Goias Federal Institute, Rio Verde Campus, in January, 2011.

Selected seeds were submersed in running water for 10 minutes followed by immersion in 70% alcohol for 30 seconds and then 100% bleach with three drops of 80% Tween for 20 minutes. The seeds were then washed three times in autoclaved distilled water under a laminar flow hood. These procedures were applied to avoid the *in vitro* contaminants.

The seeds were cultured in test tubes (25 x 150 mm) that contained 20 mL of MS culture media (MURASHIGE & SKOOG, 1962) with half the original concentration of salts. The media was prepared with 3.5 g L<sup>-1</sup> of agar (Dynamic), 30 g of sucrose, and the commercial products Standak Top<sup>®</sup> and CoMo Raiz<sup>®</sup>. The pH of the medium was adjusted to 5.7 ± 0.3 before autoclaving. The experimental treatments included the following doses: 0, 1.0, 2.0, 3.0, and 4.0 mL<sup>-1</sup>. According to the manufacturers, the recommended dose for treating seeds with Standak Top<sup>®</sup> and CoMo Raiz<sup>®</sup> is 2.0 mL L<sup>-1</sup>. The recommended dose was used as a reference dose to establish the treatments in this study. The treatments were performed according to Table 1.

The inoculated tubes were kept in a growth chamber at 25 ± 2 °C and at 45-46% relative humidity. Photosynthetic active radiation of 45-55 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> from cool white fluorescent lights was used to produce a photoperiod of 16 hours light.

Assessments were performed after 30 days of cultivation. The observed characteristics were contamination levels, shoot length, and the number of expanded leaves.

The experimental design was completely randomized in a 4 x 3 + 1 factorial arrangement (four concentrations: 1, 2, 3, and 4 mL of the commercial products Top Standak<sup>®</sup>, CoMo Raiz<sup>®</sup>, a mixture of both, and the control treatment) with 20 replicates. Each test tube corresponded to one replicate for a total of 260 experimental units. The experiment was repeated once. The data were tested using ANOVA, and the means were compared according to the Scott-Knott test (5%) using SISVAR software (FERREIRA, 2003).

## RESULTS AND DISCUSSION

Culture media containing Standak Top<sup>®</sup> yielded the best explant response. Specifically, the seedlings showed greater vigor (greater shoot length, number of leaves and intensity of green colour). Moreover, they were well formed without morphological abnormalities, oxidation, or callus formation. Treatment with Standak Top<sup>®</sup> also yielded greater root formation, leaf number, and shoot length than other treatments (Figure 1). This is the first report to indicate the efficacy of using of Standak Top<sup>®</sup> on protection and vigor improvement of *Eucalyptus* seedlings under *in vitro* propagation. Seedlings cultured in media containing CoMo Raiz<sup>®</sup> had less vigor (lower shoot length, fewer leaves, and a brown coloration). Senescence and abscission of some leaves were also observed. The percent of contaminated plantlets receiving the CoMo Raiz<sup>®</sup> treatment was also greater. Seedlings treated with a combination of Standak Top<sup>®</sup> and CoMo Raiz<sup>®</sup> (1.0 + 1.0 mL, 2.0 + 2.0 mL, 3.0 + 3.0 mL and 4.0 + 4.0 mL of Standak Top<sup>®</sup> +

CoMo Raiz<sup>®</sup>) exhibited explant growth similar to the treatment with CoMo Raiz<sup>®</sup> alone (1, 2, 3 or 4 mL of CoMo Raiz<sup>®</sup>) (Figure 1).

There were differences between the treatments and the concentrations of products used. Standak Top<sup>®</sup> yielded the best results for the contamination index, with an average of 0 to 15% contamination. The treatment containing CoMo Raiz<sup>®</sup> at a concentration of 4.0 mL also demonstrated an average of 15% contamination, similar to the Standak Top<sup>®</sup> and the Standak Top<sup>®</sup> + CoMo Raiz<sup>®</sup> treatments at concentrations of 2.0, 3.0, and 4.0 mL (Table 2). The highest contamination levels of 40 to 55% were detected in the controls and in the CoMo Raiz<sup>®</sup> treatments at 1.0 and 3.0 mL (Table 2).

The longest shoot lengths of 3.40, 3.45, and 3.38 cm were observed in plantlets that were germinated in culture media containing Standak Top<sup>®</sup> at concentrations of 1, 2, and 3 mL, respectively. The treatment containing CoMo Raiz<sup>®</sup> combined with Standak Top<sup>®</sup> at a concentration of 1 mL each yielded a shoot length of 2.15 cm, which was shorter than the control treatment (2.68 cm) but longer than other treatments containing both products. Media containing Standak Top<sup>®</sup> (2 or 3 mL L<sup>-1</sup>) produced plantlet growth with the most leaves. However, 2 mL L<sup>-1</sup> is preferable considering the low cost and health perspectives. There was no significant difference in leaf number between the other treatments with different doses of CoMo Raiz<sup>®</sup> mixed with Standak Top<sup>®</sup> and the control treatment (Table 2).

The average number of leaves was 4.90 for the control treatment. The treatments containing Standak Top<sup>®</sup> yielded 6.45, 7.30, 7.75, and 6.95 leaves at doses of 1, 2, 3, and 4 mL, respectively. These findings may be related to the action of strobilurins (pyraclostrobin), which generally increase net photosynthesis, and to the enzyme nitrate reductase, which is associated with the inhibition of some ethylene

synthesis precursors, including ACC synthase and ACC oxidase. Ethylene is a hormone involved in chlorophyll degradation (TAIZ & ZEIGER, 2009).

The evaluated characteristics are important variables for assessing the establishment of the studied species *in vitro*. However, from an economic perspective, we recommend adding up to 2 mL of Standak Top<sup>®</sup> per liter of culture media for tissue culture propagation when using supplementary products that maximize the *in vitro* establishment of *E. grandis* plantlets. It should be emphasized that culture medium containing 1 mL of Standak Top<sup>®</sup> promotes plantlet establishment, less contamination, more leaves, and longer shoots relative to culture medium without Standak Top<sup>®</sup>.

Seeds contaminated with fungi and bacteria cannot germinate. Therefore, it is necessary to use fungicides in the culture media and/or on the explant. According to FERREIRA et al. (2006), using fungicides, such as epoxiconazole, epoxiconazole – pyraclostrobin, and tebuconazole, to inhibit *Cylindrocladium candelabrum* in eucalyptus can have phototoxic effects. Fungicides applied at concentrations above the recommended doses may inhibit plant growth (GAO et al., 1988) and possibly select for resistant isolates (ALFENAS et al., 1987; LEROUX, 2003).

In addition to decontamination, the culture media is another important factor that can influence seedling growth. According to BORGES et al. (2011), MS culture media were appropriate for the multiplication of eucalyptus *in vitro*. In this study, we used MS media containing half of the original concentration of salts but supplemented with the commercial products Standak Top<sup>®</sup> and CoMo Raiz<sup>®</sup>. The best growth was achieved in media containing Standak Top<sup>®</sup>.

The establishment percentage of *Eucalyptus grandis* for treatments with Standak Top<sup>®</sup> added to the culture media was higher than the percentage for treatments that

included CoMo Raiz<sup>®</sup>. Thus, the use of Standak Top<sup>®</sup> is a viable option for maximizing the growth of eucalyptus plantlets.

Fungicides based on strobilurin affect the biochemical and physiological properties of plants. This hypothesis is based on studies conducted on wheat that have shown that the application of strobilurin substances increased foliar retention and grain productivity. In bean culture, there was an increase in grain production of up to 97% (RAVA, 2002).

## CONCLUSIONS

The use of Standak Top<sup>®</sup> (2 mL L<sup>-1</sup>) is recommended to increase the growth of eucalyptus *in vitro* and inhibit fungal and bacterial contamination, considering the low-cost and lower negative environmental impact.

Additions of 1 to 3 mL of Standak Top<sup>®</sup> to the culture media yielded the greatest shoot length, and the additions of 2 to 3 mL yielded the greatest number of leaves.

A combination of Standak Top<sup>®</sup> and CoMo Raiz<sup>®</sup> did not produce satisfactory results for the assessed parameters.

## REFERENCES

ALFENAS, A. C. et al. Resistência de *Cylindrocladium scoparium*, agente etiológico da podridão de estacas de *Eucalyptus* a benomyl. **Fitopatologia Brasileira**, v. 12, p.158, 1987. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_serial&pid=0100-4158&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_serial&pid=0100-4158&lng=en&nrm=iso)>

ALFENAS, A. C. et al. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: UFV, 2004. 442p.

ASSIS, T. F.; MAFIA, R. G. Hibridação e clonagem. In: BORÉM, A. **Biotecnologia Florestal**. Viçosa: UFV, 2007. p. 93-127.

BORGES, S. R. et al. Multiplicação *in vitro* de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*. **Revista Árvore**, v.35, p. 173-182, 2011. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-67622011000200001&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622011000200001&lng=en&nrm=iso). Acesso em: 18 fev. 2012. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622011000200001>.

BRAVO, V. C. D. Controle genético da regeneração *in vitro* em progênes de *Eucalyptus grandis*. **Revista Ciência Rural**, v. 38, p. 2181-2185, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v38n8/a14v38n8.pdf>. Acesso em: 18 fev. 2012.

BRONDANI, G. E. et al. Estabelecimento, multiplicação e alongamento *in vitro* de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage x *Eucalyptus dunnii*. **Revista Árvore**, v. 33, p. 11-19, 2009. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-67622009000100002&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622009000100002&lng=en&nrm=iso). Acesso em: 18 fev. 2012. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622009000100002>.

CORRÊA, L. R. et al. Carbohydrates as regulatory factors on the rooting of *Eucalyptus saligna* and *Eucalyptus globulus* Labill. **Plant Growth Regulations**, v. 45, p.63-73, 2005. Available from: <http://www.springerlink.com/content/w3202j177t552602/>.



doi: 10.1007/s10725-004-6125-z. Accessed: Feb. 18, 2012.

COUTO, J. M. F. et al. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de mogno (*Swietenia macrophylla* King). **Revista Árvore**, v. 28, p. 633-642, 2004. Disponível em: <<http://redalyc.uaemex.mx/pdf/488/48828502.pdf>>. Acesso em: 18 fev. 2012. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622004000500002>.

FERREIRA, D. F. **SISVAR versão 4.2**. DEX/UFLA, 2003. Disponível em: <<http://www.dex.ufla.br/~danielff/software.htm>>.

FERREIRA, E. M. et al. Eficiência de fungicidas sistêmicos para o controle de *Cylindrocladium candelabrum* em eucalipto. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 468-475, 2006. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-41582006000500006&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-41582006000500006&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 18 fev. 2012. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582006000500006>.

GAO, J. et al. Anatomical changes induced by triazoles in wheat seedlings. **Canadian Journal of Botany**, v. 66, p.1178-1185, 1988. Available from: <<http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/b88-168>>. Accessed: Feb. 18 2012. doi: 10.1139/b88-168.

HIGASHI, E. N. et al. **Nutrição e adubação em minijardim clonal hidropônico de *Eucalyptus***. Piracicaba: IPEF, 2002. 21p. (IPEF. Circular Técnica, 194).

LEROUX, P. Mode of action of agrochemicals towards plant pathogens. **Comptes Rendus Biologies**, v. 326, p. 9-21. 2003. Available from: <<http://www.ingentaconnect.com/content/els/16310691/2003/00000326/00000001/art00005>>. Accessed: Feb. 18, 2012. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S1631-0691\(03\)00005-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1631-0691(03)00005-2)

OLIVEIRA, R. F. de. Efeito fisiológico do F 500 na planta de soja e milho. **Atualidades Agrícolas**, BASF, São Paulo, 2005. p. 9-11. Disponível em: <<http://agro.basf.com.br/UI/AtualidadesAgricolas.aspx>>. Acesso em: 18 fev. 2012

PEREIRA, G. A. et al. Desinfestação e estabelecimento *in vitro* de explantes de bananeira 'IAC 2001' em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 3, p. 43-46, 2009. Disponível em: <[http://www.emepa.org.br/revista/volumes/tca\\_v3\\_n2\\_jun/tca08\\_banana.pdf](http://www.emepa.org.br/revista/volumes/tca_v3_n2_jun/tca08_banana.pdf)>. Acesso em: 18 fev. 2012

MURASHIGE T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962. Available from: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x/pdf>>. Accessed: Feb. 18, 2012.

RAVA, C. A. Eficiência de fungicidas no controle da antracnose e mancha angular do feijoeiro comum. **Summa Phytopathologica**, v. 28, p.65-69, 2002. Disponível em: <<http://www.summanet.com.br/home/index.php/summa-phytopathologica.html>>. Acesso em: 18 fev. 2012

SMITH, J. **Micropropagation of the Gynea Lily**. Barton: Rural Industries Research & Development Corporation, 2000. 50p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Tradução: SANTARÉM, E.R. et al. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848p.

TEIXEIRA, S. L. et al. Utilização de hipoclorito de sódio na esterilização de meio de cultivo para multiplicação *in vitro* de *Eucalyptus pellita* L. **Ciência Florestal**, v. 18, p. 185-191, 2008. Disponível em: < <http://cascavel.ufsm.br/revistas/ojs-2.2.2/index.php/cienciaflorestal/article/viewFile/456/353>>. Acesso em: 18 fev. 2012

TITON, M. et al. Efeito dos reguladores de crescimento Dicamba e Picloram na embriogênese somática em *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. **Revista Árvore**, v. 31, p.417-426, 2007. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-67622007000300007&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622007000300007&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 18 fev. 2012. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622007000300007>.

XAVIER, A. et al. Micropropagação e enxertia *in vitro* de espécies florestais. In: BORÉM, A. (Ed.) **Biotecnologia Florestal**. Viçosa: Editora UFV, 2007. p. 55-74.

XAVIER, A. et al. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. Viçosa: UFV, 2009. 272p.

Table 1 – Treatment of *Eucalyptus grandis* seeds with the products Standak Top<sup>®</sup>, CoMo Raiz<sup>®</sup>, or a combination of both, and their respective doses.

Treatment	Dose (mL L <sup>-1</sup> )	Product
1	0	Control
2	1.0	Standak Top <sup>®</sup>
3	2.0	Standak Top <sup>®</sup>
4	3.0	Standak Top <sup>®</sup>
5	4.0	Standak Top <sup>®</sup>
6	1.0	CoMo Raiz <sup>®</sup>
7	2.0	CoMo Raiz <sup>®</sup>
8	3.0	CoMo Raiz <sup>®</sup>
9	4.0	CoMo Raiz <sup>®</sup>
10	1.0 + 1.0	Standak Top <sup>®</sup> + CoMo Raiz <sup>®</sup>
11	2.0 + 2.0	Standak Top <sup>®</sup> + CoMo Raiz <sup>®</sup>
12	3.0 + 3.0	Standak Top <sup>®</sup> + CoMo Raiz <sup>®</sup>
13	4.0 + 4.0	Standak Top <sup>®</sup> + CoMo Raiz <sup>®</sup>

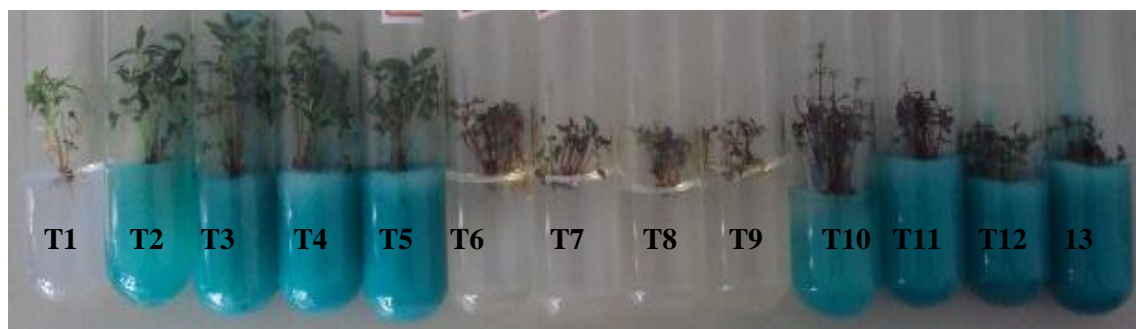


Figure 1 - *Eucalyptus grandis* plantlets after 30 days of culture *in vitro* with different doses of Standak Top<sup>®</sup>, CoMo Raiz<sup>®</sup>, or a combination of both. Treatments: 1) control, 2) 1 mL of Standak Top<sup>®</sup>, 3) 2 mL of Standak Top<sup>®</sup>, 4) 3 mL of Standak Top<sup>®</sup>, 5) 4 mL of Standak Top<sup>®</sup>, 6) 1 mL of CoMo Raiz<sup>®</sup>, 7) 2 mL of CoMo Raiz<sup>®</sup>, 8) 3 mL of CoMo Raiz<sup>®</sup>, 9) 4 mL of CoMo Raiz<sup>®</sup>, 10) 1.0 + 1.0 mL of Standak Top<sup>®</sup> + CoMo Raiz<sup>®</sup>, 11) 2.0 + 2.0 mL of Standak Top<sup>®</sup> + CoMo Raiz<sup>®</sup>, 12) 3.0 + 3.0 mL of Standak Top<sup>®</sup> + CoMo Raiz<sup>®</sup>, and 13) 4.0 + 4.0 mL of Standak Top<sup>®</sup> + CoMo Raiz<sup>®</sup>. Bar = 10 mm.

Table 2 – Contamination, shoot length and the number of leaves in *Eucalyptus grandis* as a function of adding Standak Top<sup>®</sup> and CoMo Raiz<sup>®</sup> to the germinating culture media.

Treatment	Product	Dosage (mL L <sup>-1</sup> )	Contamination (%)	Length (cm)	Number of leaves
1	Control	0	55 a	2.68 b	4.90 c
2	Standak Top <sup>®</sup>	1.0	5 c	3.40 a	6.45 b
3	Standak Top <sup>®</sup>	2.0	0 c	3.45 a	7.30 a
4	Standak Top <sup>®</sup>	3.0	5 c	3.38 a	7.75 a
5	Standak Top <sup>®</sup>	4.0	5 c	3.00 b	6.95 b
6	CoMo Raiz <sup>®</sup>	1.0	50 a	1.15 d	2.10 d
7	CoMo Raiz <sup>®</sup>	2.0	30 b	1.27 d	2.70 d
8	CoMo Raiz <sup>®</sup>	3.0	40 a	1.42 d	2.70 d
9	CoMo Raiz <sup>®</sup>	4.0	15 c	1.35 d	2.15 d
10	Standak Top <sup>®</sup> + CoMo Raiz <sup>®</sup>	1.0 + 1.0	25 b	2.15 c	5.60 d
11	Standak Top <sup>®</sup> + CoMo Raiz <sup>®</sup>	2.0 + 2.0	5 c	1.60 d	2.95 d
12	Standak Top <sup>®</sup> + CoMo Raiz <sup>®</sup>	3.0 + 3.0	15 c	1.20 d	2.35 d
13	Standak Top <sup>®</sup> + CoMo Raiz <sup>®</sup>	4.0 + 4.0	5 c	1.13 d	2.35 d

Means within a column followed by the same letter do not differ by the Scott-Knott test (5%).

## **CAPÍTULO 3**

### **CONCENTRAÇÕES CRESCENTES DE AIB, NA SOBREVIVÊNCIA E ENRAIZAMENTO DE MUDAS DE GUANANDI *IN VITRO* E EM VIVEIRO**

## **Concentrações crescentes de AIB, na sobrevivência e enraizamento de mudas de guanandi *in vitro* e em viveiro**

**Resumo:** O guanandi é uma espécie florestal nativa das Américas, possui madeira de boa qualidade e a casca e o látex são usados na medicina popular. Estudos sobre sua propagação *in vitro* possibilitam produções homogêneas em plantios comerciais, além de favorecer a manutenção de seu germoplasma. Objetivou-se com esse trabalho desenvolver estratégias para favorecer o enraizamento de guanandi, em condições *in vitro* e de viveiro. Para o cultivo *in vitro*, os segmentos nodais selecionados foram submersos em recipiente com água corrente, durante 10 minutos. Em seguida, foram imersos em solução de álcool (70%), durante 30 segundos e 20 minutos em água sanitária (100%), com três gotas de detergente Tween 80. A tríplice lavagem foi feita em câmara de fluxo laminar com água destilada autoclavada. Os segmentos nodais foram cultivados em tubos de ensaios (25 x 150 mm), contendo 20 mL de meio de cultivo MS, com a metade da concentração original dos sais. Para o cultivo em viveiro, as miniestacas foram coletadas de plantas-matrizes que apresentavam bom desenvolvimento e ótimo aspecto fitossanitário. Posteriormente, em local sombreado, foram padronizadas para 10 cm de altura e diâmetro inferior a 0,8 cm, mantendo um par de folhas em cada uma. Em seguida, foram imersas em concentrações crescentes de AIB (0, 1.000, 2.000, 4.000 e 8.000 mg L<sup>-1</sup>), durante 10 segundos. Após 30, 60 e 90 dias, foram avaliadas as seguintes características: estabelecimento, oxidação, contaminação e número de brotações por explante. Nas condições de cultivo *in vitro*, a concentração equivalente a 1.000 mg L<sup>-1</sup>, mostrou maior eficiência para favorecer o enraizamento dos explantes. No cultivo em viveiro, nenhuma das concentrações de AIB testadas exerceu efeito benéfico no enraizamento das miniestacas de guanandi.

**Palavras-chave:** regulador de crescimento, propagação vegetativa, ácido indolbutírico.

**Abstract:** Guanandi is a forest species native to the Americas, that has good quality wood and bark and latex are used in folk medicine. Studies on *in vitro* propagation allow homogeneous products in commercial plantations, and conservation. This work aimed to provide strategies for rooting both in nursery and *in vitro* for this species. For cultivation in the nursery the cuttings were collected from mother plants that had good



growth and great-looking phytosanitary characteristics. Subsequently, in a shaded, these were standardized to 10 cm and diameter of 0.8 cm, maintained a pair of sheets in each one. They were then immersed in increasing concentrations of IBA (0, 1,000, 2,000, 4,000 and 8,000 mg L<sup>-1</sup>) for 10 seconds. For the *in vitro* selected nodal segments were submerged in a container with running water for 10 minutes. They were then immersed in ethanol (70%) for 30 seconds and 20 minutes in bleach (100%), with three drops of Tween detergent (80%). The triple washing was done in laminar flow with sterile distilled water and nodal segments were cultured in test tubes (25 x 150 mm) containing 20 mL of MS medium with half of the original salts concentration. After 30, 60 and 90 days were evaluated: establishment, oxidation, contamination and number of shoots per explant. *In vitro* culture conditions, the concentration of 1,000 mgL<sup>-1</sup> has the highest efficiency to favor the explants rooting. In the nursery cultivation the cuttings showed a high mortality rate, considering the conditions under which the experiment was conducted, it is concluded that the growth regulator IBA did not exert a beneficial effect on rooting of guanandi.

**Key words:** plant regulator, vegetative propagation, indolbutiric acid.

## INTRODUÇÃO

Atualmente, existe um aumento na demanda por serviços e produtos florestais, em especial, na produção de mudas para a recuperação de áreas degradadas, revegetação, reflorestamento para fins econômicos, restauração de matas ciliares, arborização, entre outros fins. Esta demanda crescente indica a necessidade do desenvolvimento de pesquisas e técnicas que aperfeiçoem a produção de mudas, com custos competitivos e com qualidade morfofisiológicas capaz de atender aos objetivos dos plantios (SANTOS et al., 2006).

O guanandi (*Calophyllum brasiliense* Cambess) é uma espécie arbórea que ocorre naturalmente, desde América Central até a América do Sul. No Brasil, tem alto valor econômico, pela larga utilização para os mais diversos fins, tais como construção civil, marcenaria e construção naval (LORENZI, 1992).

O guanandi é uma espécie arbórea considerada clímax por demonstrar regeneração abundante na sombra. O valor de sua madeira é conhecido por ser resistente à água, ter boa durabilidade e ter características semelhantes ao mogno (CARVALHO, 2003). Tal espécie está na lista de espécies florestais tropicais que devem ser consideradas em programas de conservação de recursos genéticos “*in situ*” e “*ex situ*” (CARVALHO, 2003).

Várias espécies florestais, especialmente as nativas, produzem sementes intensamente em um ano e modestamente em outro, sendo definido tal comportamento como ciclicidade de produção (FOWLER & MARTINS, 2001). Desta forma, a propagação vegetativa tem lugar de relevância no setor florestal brasileiro, em que seu uso é justificado quando a disponibilidade de genótipos de alta produtividade e/ou sementes é insumo limitado. Nestas condições, as técnicas de propagação vegetativa podem distribuir, com maior rapidez e eficiência, os resultados de programas de melhoramento genético que buscam a conservação de espécies florestais nativas ou o estabelecimento de plantios com características mais apropriadas aos produtos esperados (ROCHA, 2002).

A aplicação de reguladores de crescimento tem possibilitado o enraizamento de propágulos vegetativos, sendo que o ácido indolbutírico (AIB) tem sido o mais utilizado (BRONDANI et al., 2008). Aplicações exógenas de auxinas podem proporcionar maior percentagem, velocidade, qualidade e uniformidade de enraizamento (HARTMANN et al., 2002). O AIB tem apresentado maior eficiência na promoção de raízes adventícias em estacas de espécies florestais, por causa da menor mobilidade e maior estabilidade química no interior da estaca. A concentração utilizada varia de acordo com a espécie, clone, estado de maturação, tipo de estaca, condições ambientais, forma e tempo de aplicação (XAVIER et al., 2009).

Objetivou-se com esse trabalho avaliar a influência de concentrações crescentes de AIB, na sobrevivência e enraizamento de mudas de guanandi *in vitro* e em viveiro.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Cultivo *in vitro***

O material vegetal utilizado na propagação *in vitro* foi composto de segmentos nodais de guanandi, obtidos de plantas germinadas em areia lavada. Os ensaios foram

conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do IF Goiano – Campus Rio Verde, em janeiro de 2011.

Os segmentos nodais selecionados foram submersos em recipiente com água corrente, durante 10 minutos. Em seguida, foram imersos em solução de álcool (70%), durante 30 segundos e 20 minutos em hipoclorito de sódio (2,5% de cloro ativo), com três gotas de detergente Tween 80. O triplicado enxágüe foi feito em câmara de fluxo laminar com água destilada autoclavada.

Os segmentos nodais foram cultivados em tubos de ensaios (25 x 150 mm), contendo 20 mL de meio de cultivo MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), com a metade da concentração original dos sais. No preparo do meio, foram adicionados 3,5g L<sup>-1</sup> de ágar (marca Dinâmica), 30g de sacarose, as diferentes concentrações de AIB (0, 1.000, 2.000, 4.000 e 8.000 mg L<sup>-1</sup>) e o pH ajustado para 5,7±0,3, antes da autoclavagem. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente ao acaso, com cinco tratamentos (0, 1.000, 2.000, 4.000 e 8.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB) e 25 repetições. Cada tubo de ensaio correspondeu a uma repetição, totalizando 125 unidades experimentais.

Os tubos inoculados foram mantidos em sala de crescimento, com temperatura de 25±2 °C, umidade relativa de 45 a 46% , fotoperíodo de 16 horas de luz e radiação fotossintética ativa de 45-55 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, obtidas a partir de lâmpadas fluorescentes brancas frias. Aos 30, 60 e 90 dias de cultivo, foram avaliadas as seguintes características: índice de contaminação, quantidade e comprimento de raízes.

### **Cultivo em viveiro**

Esta etapa foi desenvolvida no viveiro do IF Goiano - Campus Rio Verde. As miniestacas foram coletadas de plantas-matrizes que apresentavam bom desenvolvimento e ótimo aspecto fitossanitário. Posteriormente, em local sombreado, estas foram padronizadas para 10 cm de altura e diâmetro inferior a 0,8 cm, mantendo um par de folhas em cada uma. Em seguida, foram imersas em concentrações crescentes de AIB (0, 1.000, 2.000, 4.000 e 8.000 mg L<sup>-1</sup>), durante 10 segundos.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente ao acaso, constituídos de cinco concentrações de AIB (0, 1.000, 2.000, 4.000 e 8.000 mg L<sup>-1</sup>) e 50 repetições, totalizando 250 miniestacas.

Após tratadas, as miniestacas foram plantadas em tubetes de 300 cm<sup>3</sup> contendo o substrato Plantmax<sup>®</sup> e transferidas para casa de vegetação, revestida com sombrite 80%.

A irrigação foi feita por nebulização, durante 10 segundos a cada 10 minutos. Todas as plantas de cada tratamento foram avaliadas quanto à sobrevivência, aos 30, 60 e 90 dias após o transplântio.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sob condições *in vitro*, aos 30 dias de cultivo, o índice de contaminação foi baixo, isto é, apenas um tubo de ensaio foi contaminado no tratamento 0 mg L<sup>-1</sup> de AIB. Não houve emissão de raízes, nem morte dos explantes (Figura 1).

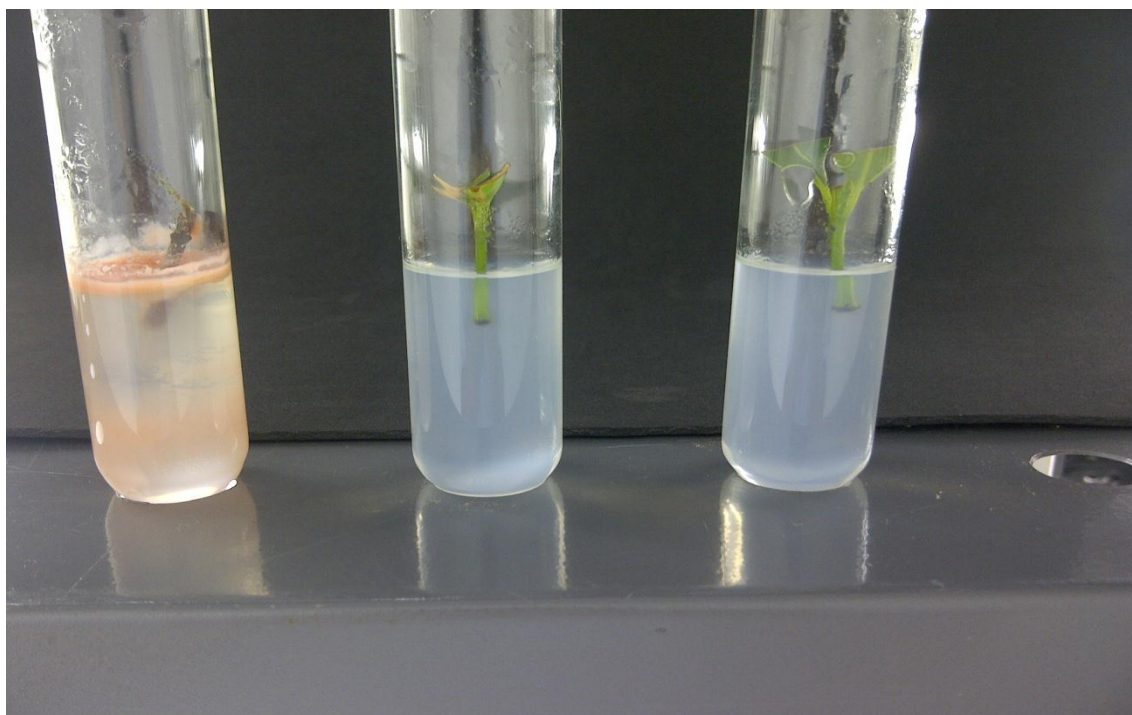


Figura 1 – Explantes de guanandi contaminado e não contaminados, após 30 dias de cultivo *in vitro*, no IF Goiano – Campus Rio Verde-GO.

Na avaliação após 60 dias de cultivo, foi observada a emissão de raízes em duas repetições (8%) do tratamento 1.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB e não foi detectado aumento da contaminação, nem da mortalidade dos explantes (Figura 2).

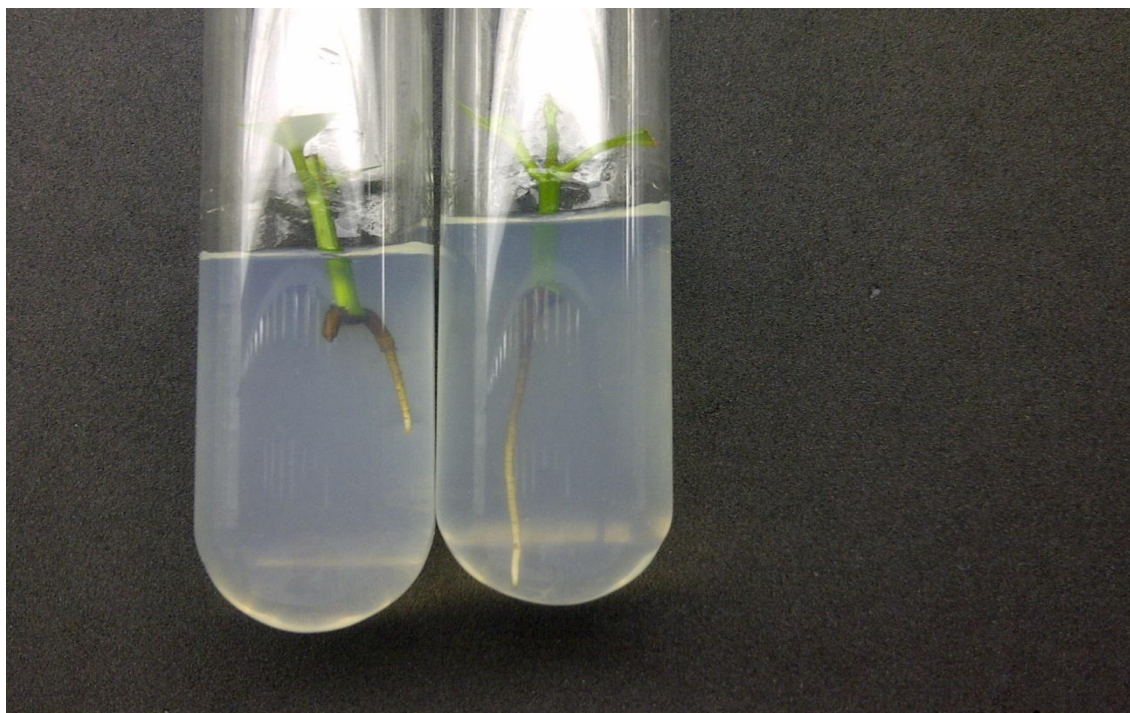


Figura 2 – Explantes de guanandi com emissão de raízes, após 60 dias de cultivo *in vitro*, no IF Goiano – Campus Rio Verde-GO.

Aos 90 dias de cultivo *in vitro*, verificou-se que não houve aumento da contaminação, sendo notado enraizamento em mais duas repetições do tratamento 1.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB e não houve mortalidade dos explantes.

Em viveiro, na avaliação após 30 dias do transplantio, todos os tratamentos demonstraram acentuada mortalidade, sendo constatados 38, 13, 22, 26 e 41% de mortalidade nas concentrações de 0, 1.000, 2.000, 4.000 e 8.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB, respectivamente. As plântulas apresentavam murchamento e seca total, não sendo possível realizar avaliações organométricas (Figura 3). É também possível que o baixo índice de sobrevivência das miniestacas de guanandi tenha ocorrido por causa da presença de bactérias e fungos no substrato que, aliada a alta umidade do mesmo, tiveram sua atividade favorecida e ocasionaram o apodrecimento dos tecidos.

Em estudos com candeia (*Eremanthus erythropopus*), Goulart (2003) observou a inviabilidade de propagação vegetativa, em razão do baixo enraizamento, independentemente da utilização de reguladores de crescimento. Contrariamente, Wendling & Souza Junior (2003) observaram que, para miniestacas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) de origem seminal, a propagação vegetativa é tecnicamente viável, atingindo valores médios de 75% de sobrevivência, aos 120 dias de idade das

mudas, sem a necessidade de aplicação de reguladores de crescimento para o enraizamento.

A concentração ótima do regulador de crescimento é variável, de acordo com a espécie e o tipo de estaca utilizada. Estudos com espécies florestais nativas, utilizando a técnica de estaquia têm mostrado grandes variações na capacidade de enraizamento. Ademais, pelo fato do guanandi ser uma espécie arbórea que não sofreu nenhum tipo de melhoramento genético, é natural a alta heterogeneidade dos resultados obtidos ou mesmo a ausência de resposta, frente aos tratamentos com AIB.

Sousa Junior et al. (2008) relatam que, para *Grevillea robusta*, o tratamento com 2.000 mg L<sup>-1</sup> foi o que induziu menores valores médios nas características avaliadas. Segundo esses autores, as diferenças em relação aos efeitos das dosagens de AIB podem ser explicadas pelo fato de se tratar de material juvenil, oriundo de plantas a partir de sementes, em que o balanço hormonal interno se mostra favorável ao enraizamento, ocasionando resposta pouco expressiva às aplicações de regulador de crescimento.

Estacas de corticeira-do-banhado (*Erythrina crista-galli*) apresentaram variações de enraizamento de 0 a 100%, aos 60 dias, em função do tipo de estaca utilizada (CHAVES et al., 2003). Em estacas de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam), os valores médios de enraizamento foram de 15%, com uso de AIB, e 16%, usando ácido naftalenoacético, aos 120 dias (MARROQUIM et al., 2005).

De acordo com Oliveira et al. (2003), para o enraizamento de estacas de pessegueiros, são necessários 2.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB. Já para estacas de acácia (*Acacia mearnsii* De Wild), concentrações inferiores a 1.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB promoveram os melhores resultados no enraizamento (BORGES & MARTINS-CORDER, 2000).





Figura 3 – Plântulas mortas e secas de guanandi, após 30 dias de transplântio para viveiro, no IF Goiano – Campus Rio Verde-GO.

Após 60 dias de cultivo em viveiro, foi observado aumento na taxa de mortalidade em todos os tratamentos, não houve emissão de novas folhas, tampouco aumento da parte aérea e quase nenhum enraizamento. Os percentuais de mortalidade foram 52, 22, 37, 39 e 65% nas concentrações de 0, 1.000, 2.000, 4.000 e 8.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB, respectivamente. Apenas três plântulas do tratamento com 1.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB emitiram raízes (Figura 4). Xavier et al. (2009) relatam que os ganhos advindos da aplicação dos reguladores de crescimento têm sido mais frequentes em materiais com maior dificuldade de enraizamento, seja por questões genéticas ou em função do estágio de maturação dos propágulos.



Figura 4 – Plântulas de guanandi com emissão de raízes na avaliação dos 60 dias, no IF Goiano – Campus Rio Verde-GO.

Na avaliação após 90 dias de transplântio, os percentuais de mortalidade foram de 99, 85, 98, 96 e 100% nas concentrações de 0, 1.000, 2.000, 4.000 e 8.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB, respectivamente. Santos (2002) afirma que há um nível máximo para a aplicação de AIB e que a partir de determinadas dosagens, o regulador de crescimento passa a ser prejudicial. De acordo com Silva et al. (2010), o índice de enraizamento não foi alterado em função do tipo de miniestacas de guanandi e da aplicação de AIB, com exceção das estacas apicais tratadas com 8.000 mg L<sup>-1</sup>, que sofreram leve redução no enraizamento. Esses autores sugerem ainda que a aplicação de AIB não produz efeito positivo em estacas desta espécie arbórea, principalmente em material juvenil com boa capacidade de enraizamento.



## CONCLUSÕES

Nas condições de cultivo *in vitro*, a concentração equivalente a 1.000 mg L<sup>-1</sup>, mostrou maior eficiência para favorecer o enraizamento dos explantes de guanandi.

No cultivo em viveiro, nenhuma das concentrações de AIB testadas exerceu efeito benéfico no enraizamento das miniestacas de guanandi.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORGES, N. J.; MARTINS-CORDER, M. P. **Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de Acácia Negra (*Acacia mearnsii* De Wild)** In: Congresso e Exposição Internacional sobre Florestas, 6., Anais... Porto Seguro, 2000. p.109.

BRONDANI G.E. et al. **Ácido indolbutírico em gel para enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus benthamii* Maiden e Cambage x *Eucalyptus dunnii* Maiden.** **Scientia Agrária**, Curitiba. v.9, n.2, p.153-158, 2008.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p. 485-494.

CHAVES, C. R. M.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; BONA, C.; CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R.; KOEHLER, H. S. **Enraizamento de cinco tipos de estacas caulinares de corticeira-do-banhado**, In: Congresso brasileiro de fisiologia vegetal, 9., 2003. Anais... Campinas, 2003. v. 15, p. 135.

FOWLER, A. P.; MARTINS, E. G. **Manejo de sementes de espécies florestais.** Colombo: Embrapa Florestas, 2001. 76 p. (Embrapa Florestas. Documentos, 58).

GOULART, P. B. **Desenvolvimento de metodologia para enraizamento de estacas de candeia (*Eremanthus erythopappus* (DC) Macleish).** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2003. 32p.

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. 890 p.

LORENZI, H. 1992. **Árvores, brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum. 352p.

MARROQUIM, P. M. G.; SANTOS, C. M.; SOUZA, N. N. F.; ENDRES, L. **Propagação vegetativa de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) com uso de auxinas**. In: Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal 10.; Congresso Latinoamericano de Fisiologia Vegetal, 12., 2005, Recife. Anais... Campinas: Sociedade Brasileira de Fisiologia Vegetal, 2005.

MURASHIGE T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

OLIVEIRA, A. P.; NIENOW, A. A.; CALVETE, E. O. Capacidade de enraizamento de estacas semilenhosas e de cultivares de pessegueiro tratadas com AIB. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, p. 282-285, 2003.

ROCHA, M. G. B. **Melhoramento de espécies arbóreas nativas**. Belo Horizonte: Instituto Estadual Floresta Sustentável IEF/MG, 2002. 173 p.

SANTOS, G. **Miniestacas na clonagem de jequitibá, mogno, cedro e canjerana**. 70 f. Monografia (Graduação)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

SANTOS, P. S.; LISBOA, A. C.; NETO, S. N.; GRUGIKI, M. A.; FERREIRA, M. A. Qualidade de mudas de quatro espécies florestais produzidas em diferentes tubetes. **Floresta e Ambiente**, v. 13, p. 69-78, 2006.

SILVA, R. L. da.; OLIVEIRA, M. L. de; MONTE, M. A.; XAVIER, A. Propagação clonal de guanandi (*Calophyllum brasiliense*) por miniestaquia. **Agronomía Costarricense**, v. 34, p. 99-104, 2010.

SOUSA JUNIOR, L.; QUOIRIN, M.; WENDLING, I. Miniestaquia de *Grevillea robusta* A. Cum a partir de propágulos juvenis. **Ciência Florestal**, v. 18, p. 455-460, 2008.

WENDLING, I.; SOUSA JUNIOR, L. **Propagação vegetativa de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) por miniestaquia de material juvenil**. In: Congresso Sul-Americano da Erva-Mate, 3., 2003, Chapecó; Feira do Agronegócio da Erva-Mate, 2003, Chapecó. Anais... Chapecó: EPAGRI, 2003.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. Viçosa: UFV. 2009. 276p.

## **CAPÍTULO 4**

**DESENVOLVIMENTO DE PROCESSO BIOTECNOLÓGICO  
PARA SOBREVIVÊNCIA E PRODUÇÃO DE MUDAS DE CLONE  
DE *EUCALYPTUS UROGRANDIS* CLONE I-144**

## **Desenvolvimento de processo biotecnológico para sobrevivência e produção de mudas de clone de *Eucalyptus urograndis* clone I-144**

**Resumo** - Dentre os diversos fatores que podem influenciar o enraizamento e sobrevivência de mudas de espécies arbóreas, o substrato e a utilização de substâncias como reguladores de crescimento e microrganismos promotores do crescimento vegetal e ou a associação entre eles, pode ser estratégica. Objetivou-se com este trabalho comparar a eficácia da inoculação de microrganismos solubilizadores de fosfato, da adição de AIB e de CoMo Raiz<sup>®</sup>, no enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus urograndis* I-44. A partir de amostras de solo coletadas próximo às raízes do clone de *Eucalyptus urograndis* I-144, em florestas comerciais, foi feito o isolamento de bactérias e fungos solubilizadores de fosfato, utilizando o meio GL contendo CaHPO<sub>4</sub>. Foram selecionados dois microrganismos que produziram halos de solubilização no referido meio. Para o preparo do inoculante, os isolados foram inoculados em meio GL líquido e incubados em incubadora shaker, por 72 horas a 30 °C. Ao término do período de incubação, amostras de 100 µL de cada inoculante foram plaqueadas em meio GL sólido, pelo método *pour plate* e incubadas (24 h, 30 °C). Procedendo então a contagem do número de UFC e a padronização para 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup> para ambos os isolados, utilizando meio GL líquido esterilizado como diluente. O isolado bacteriano MBSF2 destaca-se entre os demais tratamentos, na maioria das características analisadas, seu uso pode ser recomendado para incrementar, de forma barata, o enraizamento em viveiro de mudas do clone *Eucalyptus urograndis* I-144. Os tratamentos com o regulador de crescimento AIB (4.000 mL L<sup>-1</sup>) e com o produto comercial CoMo Raiz<sup>®</sup>, proporcionam resultados satisfatórios na maioria das características analisadas.

**Palavras chave:** microrganismos rizosféricos, regulador de crescimento, solubilização de fosfatos.

**Abstract** - Among the many factors that can influence aspects of rooting and survival of seedlings, the substrate and the use of substances such as growth regulators and micro-organisms and plant growth promoters or association between them, can be strategic. The objective of this work was to compare the efficiency of P-solubilizing microorganisms inoculation, AIB and CoMo Raiz<sup>®</sup> addition in the mini-cuttings of

*Eucalyptus urograndis* I-144 clones. From soil samples collected close to rooting of *Eucalyptus urograndis* I-144 clones, in commercial forest it was isolated P-solubilizing bacterial and fungi, using GL with  $\text{CaHPO}_4$ . Two microorganisms were selected which produced solubilization halos in the medium. To prepare the inoculum, the isolates were inoculated in GL liquid and incubated in an incubator shaker for 72 hours at 30°C. At the end of the incubation period, 100  $\mu\text{L}$  samples of each inoculant were plated on solid medium GL by pour plate method and incubated (24 h, 30°C). We then, count the number of colony forming units and standardization of the concentration of UFC for both isolates for  $\text{UFC } 10^8 \text{ mL GL}^{-1}$  using sterile liquid medium as diluent. The MBSF2 bacterial isolated was highlighted among treatments in the most of evaluated characteristics. Its use can be recommended with low cost to the nursery cultivation of *Eucalyptus urograndis* I-144 clone. The treatments with AIB (4.000  $\text{mL L}^{-1}$ ) growth regulators and CoMo Raiz<sup>®</sup> commercial product had good results in the most analyzed characteristics.

**Key words:** rhizospheric microorganisms, growth regulator, phosphate solubilization.

## INTRODUÇÃO

Na produção de mudas de eucalipto, a propagação vegetativa por estaquia é, ainda, a técnica de maior viabilidade econômica para o estabelecimento de plantios clonais, por permitir a multiplicação de genótipos selecionados a baixo custo e em curto período de tempo (PAIVA & GOMES, 1995).

Outro fator que afeta o enraizamento é o tipo da estaca utilizada, há uma variação fisiológica ao longo do ramo, uma vez que estacas provenientes de diferentes porções do mesmo ramo tendem a diferir quanto ao enraizamento (FACHINELLO et al., 2005).

A fertilização favorece o estabelecimento, formação e produtividade vegetal, sendo que, dentre os nutrientes essenciais o fósforo (P) e o nitrogênio representam a maior demanda pelas culturas, no entanto, sua disponibilização através do uso de microrganismos solubilizadores de P/produtores de fitohormônios pode reduzir consideravelmente o custo de produção.

A utilização de plantas associadas a microrganismos para a revegetação de áreas degradadas tem sido confirmada como uma tecnologia ecológica e economicamente viável. A inoculação de microrganismos benéficos em plantas tem sido empregada para maximizar seu desenvolvimento (CARAVACA et al., 2002). Esses microrganismos podem beneficiar o desenvolvimento das mudas em viveiro, reduzindo o tempo de produção e maximizando sua capacidade de estabelecimento em campo (CARAVACA et al., 2002; SOUCHIE et al., 2005).

Dentre os diversos fatores que podem influenciar os aspectos de enraizamento e a sobrevivência das mudas, o substrato e a utilização de substâncias como reguladores de crescimento, bem como a inoculação de microrganismos promotores do crescimento vegetal e ou a associação entre eles, pode ser estratégica (SILVEIRA, 2008).

Estudos da atividade microbiana na rizosfera, que é a zona de influência das raízes que vai desde sua superfície até uma distância de 1 a 3 mm (MOREIRA & SIQUEIRA, 2006), possibilitaram o descobrimento de diversos grupos de microrganismos importantes para o desenvolvimento vegetal. Dentre eles, estão as rizobactérias que, quando associadas às plantas, incrementam a área e o volume radicular. Tal incremento promove uma maior eficiência na absorção de água, macro e micronutrientes pelas plantas. Essas bactérias são chamadas de “Plant Growth Promoting Rhizobacteria” (PGPR) (SILVEIRA, 2008).

Além da produção ou alteração nos níveis dos fitohormônios, as rizobactérias podem promover o crescimento pelo biocontrole de doenças ou inibição de microrganismos deletérios ao desenvolvimento vegetal, seja pela competição por espaço e nutrientes, produção de sideróforos, antibióticos e compostos voláteis, sem contar ainda, a habilidade em liberar nutrientes a partir do solo pela produção de enzimas, como fosfatases, sulfatases etc (GRAY & SMITH, 2005).

Dentre os reguladores de crescimento, o AIB se destaca quanto ao seu amplo uso para incrementar o enraizamento de miniestacas de eucalipto (GALVÃO, 2000). Além do AIB, o produto comercial CoMo Raiz<sup>®</sup>, que possui em sua composição cobalto, molibdênio e giberelina, tem sido amplamente utilizado para incrementar o enraizamento de soja e milho. Até o presente, este último não foi testado quanto ao potencial de incremento do enraizamento de miniestacas de eucalipto.

Devido à funcionalidade fisiológica, benéfica e diversificada, realizada por fungos e bactérias rizosféricas e endofíticas no sistema microrganismo/solo/planta, tais como, solubilização de fosfato inorgânico, fixação biológica de N, resistência a

elevadas concentrações de sais, entre outras, busca-se selecionar e caracterizar isolados fúngicos e bacterianos visando à produção de inoculantes. Essa bioprospecção é decorrente do enorme potencial desses microrganismos que podem intervir positivamente no desenvolvimento das plantas. Assim, diversos trabalhos buscam avaliar a capacidade de bactérias fixadoras de nitrogênio e de fungos/bactérias solubilizadores de P inorgânico, visando seu uso biotecnológico nos agrossistemas (JALILI et al., 2009; TAURIAN et al., 2010; COMPANT et al., 2010)

Objetivou-se com este trabalho comparar a eficácia da inoculação de microrganismos solubilizadores de fosfato, da adição de AIB e de CoMo Raiz<sup>®</sup>, no enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus urograndis* I-44.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Isolamento dos microrganismos promotores de crescimento**

Amostras de solo foram coletadas próximo às raízes de plantas de clones de *Eucalyptus urograndis* I-144, submetidas à técnica de diluição seriada e plaqueamento, utilizando o meio GL (glicose – 10g, extrato de levedura – 2g e agar-agar – 15g L<sup>-1</sup>), adicionado do precipitado CaHPO<sub>4</sub> (10%), conforme Sylvester-Bradley et al. (1982). Foram selecionados dois microrganismos que produziram halos de solubilização de fosfato no meio supracitado. Tais isolados foram purificados e mantidos em ágar nutriente sob refrigeração.

### **Confirmação da solubilização de fontes fosfatadas em meio líquido**

O isolado bacteriano (MBSF2) foi crescido em caldo nutriente *over night*, a 160 rpm, a 30 °C. O volume de 50 µL dessa cultura, com densidade óptica de 0,73, foi inoculado em meio MS, que continha, por litro: 0,1 g de NaCl, 1 g de NH<sub>4</sub>Cl, 0,2 g de KCl, 0,1 g de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 1,2 g de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 10 g de glicose e 0,5 g de extrato de levedura (NAHAS et al., 1994). CaHPO<sub>4</sub>, AlPO<sub>4</sub> e FePO<sub>4</sub> foram adicionados na quantidade de 1,26 g L<sup>-1</sup>. A primeira fonte fosfatada foi obtida pela mistura de CaCl<sub>2</sub> (10%) e K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (10%), enquanto as duas últimas foram originadas de reagentes P.A.

Já o isolado fúngico (MFSF1) inicialmente foi crescido em meio BDA sólido (infusão de 200g de batata, dextrose - 20g, agar - 15g e água q.s.p. 1000 mL), durante



72h, a 30 °C. Posteriormente, discos de aproximadamente 0,25 cm de diâmetro, contendo micélio deste isolado, foram inoculados no meio MS para quantificação da solubilização de fosfatos. Os isolados foram incubados em meio MS líquido, sob agitação, a 30 °C, por sete dias, sendo então quantificada a solubilização dos diferentes fosfatos. Para tanto, após tal período de incubação, a fase líquida foi submetida à centrifugação (8.000 rpm), por 20 min e determinada, no sobrenadante, a quantidade de P inorgânico pelo método colorimétrico da vitamina C modificado, a 725 nm (BRAGA & DEFELIPO, 1974).

A confirmação do potencial de solubilização dos referidos microrganismos, foi mediante seu potencial de solubilização de  $\text{CaHPO}_4$ , sendo que MBSF2 e o MFSF1 solubilizaram o equivalente a  $19 \mu\text{g mL}^{-1}$  de fosfato e  $17,3 \mu\text{g mL}^{-1}$  de  $\text{FePO}_4$ , sendo para  $\text{AlPO}_4$ , o P solubilizado foi equivalente a  $2 \mu\text{g mL}^{-1}$  de fosfato o que comprova sua habilidade em disponibilizar P.

### **Obtenção do inóculo**

Para o preparo dos inoculantes, os isolados foram inoculados em meio GL líquido e incubados em incubadora *shaker*, por 72 horas, a 30 °C. Em seguida, amostras de 100  $\mu\text{L}$  de cada inoculante foram plaqueadas em meio GL sólido, pelo método *pour plate*, e incubadas (24 h, 30 °C). Procedeu-se então, a contagem do número de UFC e padronização da concentração dos isolados para  $10^8$  UFC  $\text{mL}^{-1}$ , utilizando o meio GL líquido esterilizado como diluente.

### **Obtenção da dosagem do regulador de crescimento AIB**

De acordo com o Capítulo 1 “Doses do regulador de crescimento AIB no enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus urograndis* I-144”, desta dissertação,  $4.000 \text{ mg L}^{-1}$  foi a dosagem que demonstrou resultados mais satisfatórios na promoção do enraizamento do referido clone de eucalipto. Naturalmente, tal dosagem foi escolhida para ser utilizada nesta fase do trabalho.

### **Escolha do produto comercial**

O produto comercial CoMo Raiz<sup>®</sup> composto pelos micronutrientes cobalto (1,2 g L<sup>-1</sup>) e molibdênio (84 g L<sup>-1</sup>) e o regulador de crescimento giberelina (100 g de ácido giberélico L<sup>-1</sup> de produto) foi escolhido para compor um dos tratamentos, já que tal produto é utilizado em várias culturas de interesse agrônômico por atuar no estímulo da germinação, enraizamento e crescimento de plantas. As miniestacas foram imersas, durante 10 segundos, em uma solução resultante da adição de 3g de CoMo Raiz<sup>®</sup> em 1 litro de água.

### **Instalação do experimento**

O trabalho foi desenvolvido na Fazenda Florestal II da Cooperativa Mista dos Produtores Rurais do Sudoeste Goiano (COMIGO – Ltda), no município de Rio Verde, GO.

As miniestacas foram coletadas de plantas-matrizes que apresentavam bom desenvolvimento e ótimo aspecto fitossanitário. Posteriormente, em local sombreado, estas foram padronizadas para 10 cm de altura e diâmetro inferior a 0,8 cm, mantendo um par de folhas em cada uma. Em seguida, as miniestacas foram plantadas diretamente nos tubetes de 300 cm<sup>3</sup>, contendo o substrato Plantmax<sup>®</sup> e receberam os seguintes tratamentos: 1) Controle (ausência de inoculação ou da adição de AIB ou de CoMo Raiz<sup>®</sup>); 2) Inoculação (altura do coleto) da miniestaca de 1 mL por tubete do isolado MFSF1 (10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup>); 3) Inoculação de 1 mL por tubete (altura do coleto) do isolado MBSF2 (10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup>); 4) Inoculação de 1 mL por tubete (altura do coleto) da mistura de ambos os isolados; 5) Imersão das miniestacas em uma solução de AIB na concentração de 4.000 mg L<sup>-1</sup>, durante 10 segundos, seguido de plantio nos tubetes; 6) Imersão das miniestacas produto comercial CoMo Raiz<sup>®</sup>, durante 10 segundos, seguido de plantio nos tubetes. As bandejas plásticas foram transferidas para casa de vegetação, revestida com sombrite 80%. A irrigação foi feita por nebulização, durante 10 segundos, a cada 10 minutos.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente ao acaso, esquema fatorial, com parcelas subdivididas no tempo (cinco avaliações), sendo seis tratamentos, 10 repetições, totalizando 600 miniestacas.

Aos 20, 30 e 40 dias após o transplante, 10 plantas de cada tratamento foram avaliadas quanto ao número de folhas por planta, altura da parte aérea, matéria fresca de folhas, comprimento das raízes, matéria fresca de raízes, peso de caule e percentual de sobrevivência. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey (5%), utilizando o software ASSISTAT.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação à altura da parte aérea do clone *Eucalyptus urograndis* I-144, foi observado que a inoculação do isolado MBSF2 e a adição de 4.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB, comparado ao controle, incrementaram esta variável, aos 20 e 30 dias após o transplante das miniestacas para os tubetes (Tabela 1). Aos 40 dias após o transplante, a inoculação do isolado MBSF2 promoveu maior altura da parte aérea das mudas, superando aos demais tratamentos (Tabela 1). A altura é considerada um dos parâmetros mais antigos na classificação e seleção de mudas nos viveiros (GOMES, 1987), sendo considerada relevante para estimar o potencial de desenvolvimento das plantas no campo (REIS, 1991; CARNEIRO, 1995).

**Tabela 1 – Altura (cm) de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144, submetidas a diferentes tratamentos para enraizamento, sob condições de viveiro, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO.**

Tratamentos	Épocas de Avaliações		
	20	30	40
Controle	12,9 cdA	11,9 bA	13,1 cA
MFSF1	12,9 cdA	13,2 bA	13,4 cA
MBSF2	16,4 abC	18,6 aB	21,2 aA
MFSF1 + MBSF2	11,3 dA	12,4 bA	12,5 cA
AIB 4.000 mg L <sup>-1</sup>	14,9 bcC	16,7 aB	18,2 bA
CoMo Raiz <sup>®</sup>	17,2 aB	18,0 aAB	18,9 bA

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

Similarmente a altura da parte aérea, os tratamentos de inoculação do isolado MBSF2 e de adição de AIB (4.000 mg L<sup>-1</sup>) foram os melhores para incrementar a matéria fresca de folhas (Tabela 2). Especificamente, aos 30 e 40 dias após o transplante das miniestacas, não foi verificada diferença entre os tratamentos, sendo estes superiores aos demais (Tabela 2).

**Tabela 2 – Matéria fresca de folhas (g) de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144, submetidas a diferentes tratamentos para enraizamento, sob condições de viveiro, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO.**

Tratamentos	Épocas de avaliação		
	20	30	40
Controle	0,37 eA	0,38 Ca	0,41 cA
MFSF1	0,43 deA	0,47 cA	0,49 cA
MBSF2	0,74 bcA	1,18 aA	1,25 aA
MFSF1 + MBSF2	0,56 cdB	0,73 bA	0,76 bA
AIB 4.000 mg L <sup>-1</sup>	0,78 abB	1,09 aA	1,12 aA
CoMo Raiz <sup>®</sup>	0,95 aB	1,05 aAB	1,09 aA

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

Quanto ao número de folhas (Tabela 3) e matéria fresca de raízes (Tabela 4), aos 40 dias após o transplante, foi constatada superioridade do tratamento de inoculação do isolado MBSF2 em relação aos demais.

**Tabela 3 – Número de folhas de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144, submetidas a diferentes tratamentos para enraizamento, sob condições de viveiro, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO.**

Tratamentos	Épocas de avaliação		
	20	30	40
Controle	6,7 cA	6,6 eA	7,1 eA
MFSF1	6,9 cB	9,1 cdA	9,9 cdA
MBSF2	10,6 aC	14,1 aB	16,1 aA
MFSF1 + MBSF2	7,1 cB	8,4 deAB	9,1 deA
AIB 4.000 mg L <sup>-1</sup>	7,9 bcB	11,2 bA	12,6 bA
CoMo Raiz <sup>®</sup>	9,3 abB	10,9 bcA	11,4 bcA

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

**Tabela 4 – Matéria fresca das raízes (g) de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144, submetidas a diferentes tratamentos para enraizamento, sob condições de viveiro, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO.**

Tratamentos	Épocas de avaliação		
	20	30	40
Controle	0,28 bB	0,78 bA	0,94 cA
MFSF1	0,55 bB	0,91 bAB	0,99 cA
MBSF2	1,31 aC	2,82 aB	3,29 aA
MFSF1 + MBSF2	0,51 bB	0,99 bA	1,06 cA
AIB 4.000 mg L <sup>-1</sup>	1,06 aC	2,33 aB	2,76 bA
CoMo Raiz <sup>®</sup>	1,17 aB	2,53 aA	2,77 bA

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

Avaliando a matéria fresca dos caules, aos 30 e 40 dias após o transplante, foi constatado que os tratamentos com o isolado MBSF2, a adição de AIB (4.000 mg L<sup>-1</sup>) e de CoMo Raiz<sup>®</sup> foram os que mais incrementaram esta variável (Tabela 5).

**Tabela 5 – Matéria fresca dos caules (g) de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144, submetidas a diferentes tratamentos para enraizamento, sob condições de viveiro, na Fazenda Florestal II, Rio Verde, GO.**

Tratamentos	Épocas de avaliação		
	20	30	40
Controle	0,21 dA	0,23 cA	0,24 dA
MFSF1	0,24 dB	0,31 cAB	0,34 cA
MBSF2	0,43 bcB	0,71 aA	0,75 aA
MFSF1 + MBSF2	0,36 cB	0,44 bA	0,46 bA
AIB 4.000 mg L <sup>-1</sup>	0,52 abB	0,68 aA	0,71 aA
CoMo Raiz <sup>®</sup>	0,61 aB	0,69 aA	0,71 aA

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (5%).

No setor florestal, em que o tempo de rotação dos talhões é muito longo, a inoculação com rizobactérias não resultaria, de forma direta, no aumento da produção de madeira. Todavia, mudas inoculadas com rizobactérias selecionadas, promotoras do crescimento vegetal, podem apresentar maior índice de sobrevivência e estabelecimento mais precoce, após seu transplante a campo, em função da melhoria da qualidade do sistema radicular (MAFIA et al., 2007).

A formação de raízes em estacas é um processo anatômico e fisiológico complexo, associado à desdiferenciação e ao redirecionamento do desenvolvimento de células vegetais totipotentes, para a formação de meristemas que originarão raízes adventícias, sendo que os fundamentos biológicos da formação de tais raízes são pouco conhecidos (ALFENAS et al., 2004; KOMATSU et al., 2011; PAPP & PLATH, 2011).

O efeito positivo da inoculação de alguns isolados na promoção do enraizamento pode estar aliado à solubilização de fosfatos adicionados na forma de fertilizantes ou daquele presente, mas não lábil, no substrato/solo. No caso supracitado, a maior disponibilidade de P lábil favorece a nutrição e o incremento do volume/extensão radicular e, conseqüentemente, das características da parte aérea. Ressaltando que os isolados MBSF2 e MFSF1 demonstraram alto potencial de solubilização de CaHPO<sub>4</sub> e de FePO<sub>4</sub>. Além do mecanismo de solubilização de P, esses microrganismos podem favorecer o enraizamento pela exsudação de ácidos orgânicos de baixo peso molecular (cítrico, málico, oxálico, piscídico, acético e outros), em que

alguns, como ácido acético, atuam como fitormônios, que por sua vez é indutor de enraizamento. Ahmad et al. (2005) relatam que a produção relativamente alta de AIA pelos isolados avaliados sugere seu potencial uso como promotores de crescimento radicular de espécies leguminosas e não leguminosas.

Diversos trabalhos (NAIK et al., 2008; RYAN et al., 2008), relatam os benefícios da inoculação de bactérias e fungos solubilizadores de fosfato em plantas, especificamente, incrementando sua nutrição, desenvolvimento e produtividade. Sottero et al. (2006), avaliando 64 isolados de *Pseudomonas* sp., relatam que 12 deles promoveram o crescimento das plantas, sendo que quatro isolados aumentaram a massa seca radicular das plântulas e nove aumentaram o número de folhas, comparado a testemunha não inoculada.

No presente estudo, a inoculação de microrganismos rizosféricos promotores do crescimento vegetal, como no caso do isolado MBSF2, traduz em técnica promissora no favorecimento da propagação vegetativa de espécies florestais, como o eucalipto.

## CONCLUSÕES

O isolado bacteriano MBSF2 se destaca entre os demais tratamentos, na maioria das características analisadas e seu uso pode ser recomendado para incrementar, de forma barata, o enraizamento em viveiro de mudas do clone *Eucalyptus urograndis* I-144.

Os tratamentos com o regulador de crescimento AIB (4.000 mg L<sup>-1</sup>) e com o produto comercial CoMo Raiz<sup>®</sup>, proporcionam resultados satisfatórios na maioria das características analisadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, F.; AHMAD, I.; KHAN, M. S. Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. **Turkish Journal of Biology**, v. 29, p. 29-34, 2005.

ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: Editora UFV, 1. 2004. 442p.

BRAGA, J. M.; DEFELIPO, B. V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solos e plantas. **Revista Ceres**, v. 21, p. 73-85, 1974.

CARAVACA, F.; BAREA, J. M.; FIGUEROA, D. & ROLDAN, A. Assessing the effectiveness of mycorrhizal inoculation and soil compost addition for enhancing reforestation with *olea europea susbs sylvestris* through changes in soil biological and physical parameters. **Applied Soil Ecology**, v. 20, p. 107-118, 2002.

CARNEIRO, J. G. A. **Produção e controle de qualidade de mudas florestais**. Curitiba: UFPR/FUPEF, 1995.

COMPANT, S; CLÉMENT, C.; SESSITSCH, A. Plant growth promoting bacteria in the rhizo – and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 30, p. 669-678, may. 2010.

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

GALVÃO, A. P. M. Reflorestamento de propriedades rurais para fins produtivos e ambientais: um guia para ações municipais e regionais. Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, Colombo, Embrapa Florestas, 351p., 2000.

GOMES, A. L. Propagação Clonal: princípios e particularidades. **Vila Real**: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 1987. 69 p. (Série Didáctica, Ciências Aplicadas, 1).

GRAY, E. J.; SMITH, D. L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 37, p. 395-412, 2005.

JALILI, F.; KHAVAZI, K.; PAZIRA, E.; NEJATI, A.; ASADI RAHMANI, H.; RASULI SADAGHIANI, H.; MIRANSARI, M. Isolation and characterization of ACC

deaminase producing fluorescent pseudomonads to alleviate salinity stress on canola (*Brassica napus* L.) growth. **Journal of Plant Physiology**, Irvine, v. 166, p. 667–674, set. 2009.

KOMATSU, Y. H.; BATAGIN-PIOTTO, K. D.; BRONDANI, G. E.; GONÇALVES, A. N.; ALMEIDA, M. *In vitro* morphogenic response of leaf sheath of *Phyllostachys bambusoides*. **Journal of Forestry Research**, v. 22, p. 209-215, 2011.

MAFIA, R. G.; ALFENAS A. C.; FERREIRA E. M.; TEIXEIRA D. A.; ZAUZA E. A. V. Indução do enraizamento e crescimento do eucalipto por rizobactérias: efeito da adição de fonte alimentar e da composição do substrato de enraizamento. **Revista Árvore**, v. 31, p. 589-597, 2007.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. Rizosfera In: MOREIRA, F. M. S. & SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2ª edição atualizada e ampliada. Lavras, Editora UFLA, 2006. P. 407-447.

NAIK, B. S.; SHASHIKALA, J.; KRISHNAMURTHY, Y. L. Host growth characteristics influenced by seed inoculation with microorganisms. **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 4, p. 891-895, 2008.

NAHAS, E.; CENTURION, J. F.; ASSIS, L. C. Microrganismos solubilizadores de fosfatos e produtores de fosfatases de vários solos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 18, p.43-48, 1994.

PAIVA, H. N.; GOMES, J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Viçosa: UFV, 1995. 40p.

PAPP, B.; PLANTH, K. Reprogramming to pluripotency: stepwise resetting of the epigenetic landscape. **Cell Research**, v. 21, p. 486-501, 2011.

REIS, M. G. F. Crescimento e forma de fuste de mudas de jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* Fr. Allem.) sob diferentes níveis de sombreamento e tempo de cobertura. **Revista Árvore**, v. 15, p. 23-34, 1991.



RYAN, R. P.; GERMAINE, K.; FRANKS, A.; RYAN, D. J.; DOWLING, D. N. Bacterial endophytes: recent developments and applications. **FEMS Microbiology Letters**, v. 278, p. 1-9, 2008.

SILVEIRA, E. L. Inoculações de bactérias promotoras de crescimento no cultivo de arroz em solução nutritiva. (Tese de **Doutorado em Microbiologia Agropecuária**). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2008.

SOUCHIE, E. L.; CAMPELLO, E. F. C.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J.; SILVA, E. M. R. da. Mudanças de espécies arbóreas inoculadas com bactérias solubilizadoras de fósforo e fungos micorrízicos arbusculares. **Floresta**, v. 35, p. 329-334, 2005.

SOTTERO, N. A.; FREITAS S. S.; MELO, A. M. T.; TRANI, P. E. Rizobactéria e alfafa: colonização rizosférica, promoção de crescimento e controle biológico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, p. 225-234, 2006.

SYLVESTER-BRADLEY, R.; ASKAWA, N.; LATORRACA, S.; MAGALHÃES, F. M. M.; OLIVEIRA, L. A.; PEREIRA, R. M. Levantamento quantitativo de microrganismos solubilizadores de fósforo na rizosfera de gramíneas e leguminosas forrageiras na Amazônia. **Acta Amazonica**, v. 12, p. 12-22, 1982.

TAURIAN, T.; ANZUAY, M. S.; ANGELINI, J. G.; TONELLI, M. L.; LUDUEÑA, L.; PENA, D.; IBÁÑEZ, F.; FABRA, A. Phosphate-solubilizing peanut associated bacteria: screening for plant growth-promoting activities. **Plant Soil**, v. 329, p. 421–431, Apr. 2010.

## CONCLUSÃO GERAL

A utilização do regulador de crescimento AIB na concentração de 4.000 mg L<sup>-1</sup>, é a mais indicada para favorecer o enraizamento e a formação de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144.

A concentração de 8.000 mg L<sup>-1</sup> do regulador de crescimento AIB, não é recomendada para o estabelecimento de mudas de *Eucalyptus urograndis* I-144, em viveiro.

O uso de Standak Top<sup>®</sup> (2 mL L<sup>-1</sup>) é recomendado para incrementar o crescimento de eucalipto *in vitro* e inibir a contaminação bacteriana e fúngica, na perspectiva de baixo custo e impacto negativo ao ambiente.

A adição de 1 a 3 mL of Standak Top<sup>®</sup> ao meio de cultura favoreceu a maior extensão radicular de eucalipto, enquanto a adição de 2 a 3 mL of Standak Top<sup>®</sup> favoreceu o maior número de folhas.

Nas condições de cultivo *in vitro*, a concentração equivalente a 1.000 mg L<sup>-1</sup>, mostrou maior eficiência para favorecer o enraizamento dos explantes de guanandi.

No cultivo em viveiro, nenhuma das concentrações de AIB testadas exerceu efeito benéfico no enraizamento das miniestacas de guanandi.

O isolado bacteriano MBSF2 se destaca entre os demais tratamentos, na maioria das características analisadas e seu uso pode ser recomendado para incrementar, de forma barata, o enraizamento em viveiro de mudas do clone *Eucalyptus urograndis* I-144.

Os tratamentos com o regulador de crescimento AIB (4.000 mg L<sup>-1</sup>) e com o produto comercial CoMo Raiz<sup>®</sup> proporcionam resultados satisfatórios na maioria das características analisadas.