

REVIGORAMENTO DE CLONES DE *Toona ciliata* var. *australis* POR
MINIESTAQUIA

THAÍS CHAGAS BARROS

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE

DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2015

REVIGORAMENTO DE CLONES DE *Toona ciliata* var. *australis* POR
MINIESTAQUIA

THAÍS CHAGAS BARROS

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal”.

Orientador: Prof^a. Deborah Guerra Barroso.

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2015

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCTA / UENF 134/2015

Barros, Thais Chagas

Revigoração de clones de *Toona ciliata* var. *australis* por miniestaquia / Thais Chagas Barros. – 2015.
78 f. : il.

Orientador: Deborah Guerra Barroso.
Dissertação (Mestrado - Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2015.
Bibliografia: f. 66 – 74.

1. Propagação vegetativa 2. Miniestaquia seriada I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD– 634.9756

REVIGORAMENTO DE CLONES DE *Toona ciliata* var. *australis* POR
MINIESTAQUIA

THAÍS CHAGAS BARROS

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal”.

Aprovada em 26 de fevereiro de 2015

Comissão Examinadora:

Dr. Guilherme Rodrigues Rabelo (D.Sc., Biociências e Biotecnologia) – UENF

Prof^a. Cláudia Sales Marinho (D.Sc., Fruticultura Tropical) – UENF

Prof. Rogério Luiz da Silva (D.Sc., Ciência Florestal) – UFRRJ

Prof. Deborah Guerra Barroso (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF
(Orientadora)

Dedico

A Deus;

À minha amada e essencial família.

“O coração humano projeta o caminho, mas é o Senhor quem dirige os passos” (Provérbios 16, 9).

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me conduzido no caminho dessa conquista;

Aos meus pais Luis Antônio e Edilce, pelos ensinamentos e pela formação.

Obrigada mamãe por todo amor, incentivo, companheirismo e orações;

Ao Guinho, pela dedicação, pelo apoio, pela amizade e pelo estímulo. E a Mi pela amizade, pela torcida e pelas risadas;

Ao tio, e maior incentivador, Nairam e a todos os tios, tias, primas e primos pelo carinho e apoio;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, pela realização do curso e pelos ensinamentos acadêmicos;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo;

À Professora Deborah Guerra Barroso, pela orientação, pela confiança, pelas críticas e sugestões durante a realização desse trabalho;

Aos professores das disciplinas cursadas, pelos ensinamentos transmitidos;

À amiga Taiane, pelo companheirismo, pela paciência, pela sabedoria e pelas orações;

Aos competentes alunos de iniciação científica, Giovanna, Marcos, Bruna e Rommel, pela amizade e pelo auxílio durante a condução do experimento;

Às parceiras de disciplinas, Thaísa, Kari, Grazi, Camila, Renata, Letícia, Carol, Jovi, Laís, Helô e Rose, pela ajuda e agradável convivência;

Aos funcionários do Laboratório de Fitotecnia, Guilherme, Isa e Armando, pelo auxílio nas pesquisas;

Aos amigos e às amigas de Viçosa e do CEFET, pelo afeto e pela torcida;

Aos queridos Luiz Fernando e Célia, pelo amor, pelo apoio e pela preocupação;

Ao Caio, que mesmo longe, compartilhou comigo os bons momentos e me ajudou nos momentos mais difíceis. Obrigada por tudo;

Enfim, a todos que de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para essa conquista.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	01
2. OBJETIVO GERAL	03
2.1. Objetivos específicos	03
3. REVISÃO DE LITERATURA	04
3.1. Cedro australiano (<i>Toona ciliata</i> var. <i>australis</i>)	04
3.2. Propagação do cedro australiano	07
3.3. Miniestaquia seriada	10
3.4. Anatomia e enraizamento adventício	12
4. MATERIAL E MÉTODOS	18
4.1. Instalação do experimento	18
4.2. Origem das matrizes	19
4.3. Coleta e tratamento do material a ser propagado	20
4.4. Formação dos subcultivos e cultivo de resgate do campo.....	22
4.5. Sobrevivência e produtividade das minicepas	25
4.6. Aspecto morfológico das brotações das minicepas	26
4.7. Enraizamento e qualidade das mudas produzidas por miniestaquia	26
4.8. Anatomia da base do caule das miniestacas após enraizamento	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1. Sobrevivência e produtividade das minicepas	31

5.2. Aspecto morfológico das brotações das minicepas	40
5.3. Enraizamento e qualidade de mudas	44
5.4. Anatomia da base das miniestacas	57
6. RESUMO E CONCLUSÕES	63
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
APÊNDICE	

RESUMO

BARROS, Thaís Chagas, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Fevereiro de 2015. Revigoração de clones de *Toona ciliata* var. *australis* por miniestaquia. Orientadora: Prof^a. Deborah Guerra Barroso.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a miniestaquia seriada e o cultivo de resgate do campo a partir de brotações de cepas adultas, quanto à produtividade, à qualidade do enraizamento e ao crescimento das mudas de três clones (TC3, TC9 e TC15) de *Toona ciliata*, bem como o aspecto morfológico das brotações das minicepas e a anatomia da base do caule das miniestacas enraizadas de dois dos clones. O minijardim foi estabelecido em canaletões, com mudas clonais produzidas a partir do resgate de brotações coletadas de cepas de três matrizes que sofreram corte raso (resgate do campo); com mudas oriundas de miniestacas do minijardim clonal anteriormente estabelecido, formando o subcultivo 1 (SUB1); e mudas multiplicadas, por miniestaquia seriada, a partir das miniestacas enraizadas do SUB1, formando o subcultivo 2 (SUB2). Foram realizadas sete coletas sucessivas de brotações no SUB1, no SUB2 e no cultivo de resgate de campo, com intervalos de 30 dias, sendo avaliado o percentual de sobrevivência das minicepas, o número de brotações e de miniestacas produzidas por minicepas. Em uma coleta coincidente também foi avaliada a morfologia de minicepas selecionadas. Aos 30 dias após o estaqueamento, as miniestacas foram avaliadas quanto ao percentual de enraizamento, número de raízes de primeira e segunda ordem, comprimento total de raízes, comprimento total de raízes até 2 mm de diâmetro e diâmetro médio de raízes. Foram coletados fragmentos da base das miniestacas dos clones TC9 e TC15 para caracterização anatômica. Aos 105 dias após o estaqueamento, as mudas foram avaliadas quanto a sobrevivência, altura, diâmetro, área foliar, número e comprimento de

raízes de primeira ordem, comprimento total de raízes, massa seca da parte aérea e sistema radicular e determinado o índice de qualidade de Dickson. As minicepas apresentaram alta sobrevivência independente da origem. As minicepas do clone TC3 produziram mais miniestacas no SUB2 em relação aos demais cultivos. Minicepas do clone TC15 foram mais produtivas em miniestacas, quando originadas de material resgatado de matrizes adultas (sete anos), dois anos após o corte raso. O efeito da miniestaquia seriada, após dois subcultivos, foi variável em função das características avaliadas. Houve diferença no comportamento dos materiais genéticos em função dos tratamentos. A morfologia das brotações das minicepas dos clones avaliados foi semelhante nos diferentes cultivos. Não houve efeito positivo dos dois cultivos seriados no enraizamento das miniestacas e na qualidade das mudas dos clones avaliados de *Toona ciliata*. Indicando um pequeno grau de revigoração nesse estágio. Não foram observadas barreiras anatômicas ao enraizamento dos clones nos diferentes tipos de cultivo avaliados, sendo necessários estudos posteriores que incluam ontogenia e outros testes histoquímicos.

Palavras-chave: propagação vegetativa, miniestaquia seriada.

ABSTRACT

BARROS, Thaís Chagas, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. February, 2015. Reinvigoration of *Toona ciliata* var. *australis* clones by minicutting. Advisor: Prof^a. Deborah Guerra Barroso.

The current study aimed to evaluate the serial minicuttings and field rescue cultivation from adult strains in the field, for productivity, root quality and seedlings growing of three clones (TC3, TC9 and TC15) of *Toona ciliata*, as well as the morphologic aspect of ministumps sprouts and the stalk's base anatomy of rooted minicuttings from two clones. The minigarden was established in suspended seedbed with clonal seedlings produced from sprouts rescued got from strains of three matrices that suffered shallow cut (field rescue); with seedlings from clonal minigarden's minicuttings previous established, making the subcultures 1 (SUB1); and multiplied seedlings by serial minicuttings, from SUB1 rooted minicuttings, making the subculture 2 (SUB2). Seven successive sprouts collect was made on SUB1, SUB2 and field rescue cultivation, with 30 days interval, evaluating the surviving ministumps percentage, the number of sprouts and minicuttings produced from ministumps. In a coincident collecting was also evaluated the selected minicuttings morphology. On 30 days after the staking, the minicuttings were evaluated about the rooting percentage, number of first and second order root, total root length, total length of roots till 2 mm diameter and medium roots diameter. Base fragments were collected from minicuttings of TC9 and TC15 clones for anatomic characterization. On 105 days after the staking, the seedlings

were evaluated about surviving, height, diameter, leaf area, number and lengths of first order root, total roots length, top plant and roots dry mass, and determined the Dickson quality index. The ministumps showed high survival independent of source. The TC3 clone ministumps produced more cuttings in SUB2 compared to other cultivations. The TC15 clone ministumps had a higher yield in minicuttings, when from adult matrices' (seven years) rescued material, two years after the shallow cut. The serial minicuttings effect, after two subcultures, was in function of the evaluated characters. There were differences in the behavior of genetic material by the treatments. The evaluated clones ministumps sprouts' morphology were similar at the different cultivations. There wasn't any positive effect from both serial cultivations on the minicuttings rooting and on evaluated seedlings quality of *Toona ciliate*. Indicating a small refreshment degree on this stage. There wasn't observed anatomic hedge to clones rooting to the different types of evaluated cultivations, being necessary posterior studies that include ontogeny and other hisotochemical tests.

Keywords: vegetative propagation, serial minicuttings.

1. INTRODUÇÃO

O anuário estatístico da Abraf (2013), ano base 2012, mostra que, mesmo com o baixo crescimento do Produto Interno Bruto (PIB) do país, o setor florestal manteve-se forte, apresentando um valor bruto de produção de R\$ 56,3 bilhões, sendo este, 4,6% maior que o do ano anterior. Apesar da crescente produção, estima-se que até 2019 a demanda por madeira serrada aumente 87% (Painel Florestal, 2013a). Com objetivo de atender a necessidade de madeira para a indústria de serraria e laminação e diminuir a pressão sobre os remanescentes florestais, são realizados estudos que avaliam o potencial de novas espécies para produção de material lenhoso e para diversificação de produtos no mercado.

Além dos gêneros já amplamente explorados no Brasil: *Eucalyptus* e *Pinus*, outros gêneros como *Cedrela*, que compreende os cedros nativos, ganham destaque no setor madeireiro. O cedro australiano (*Toona ciliata*), pertence à família Meliaceae e possui similaridade botânica com os cedros nativos da Mata Atlântica, fornecendo madeira de qualidade para serraria e indústria moveleira, além de apresentar resistência ao ataque de cupins e ciclo produtivo relativamente curto entre 15 a 20 anos (Pinheiro et al., 2003; Murakami, 2008; Souza et al., 2009).

A propagação vegetativa permite a multiplicação de materiais genéticos selecionados que resultarão em plantios mais uniformes e, possivelmente, em maiores ganhos em produtividade. A miniestaquia é uma das técnicas de

propagação vegetativa e se caracteriza por ser um processo relativamente simples, que requer uma área produtiva pequena e, a depender da espécie, dispensa ou reduz a utilização de reguladores vegetais para indução do enraizamento.

O sucesso da propagação vegetativa a partir de plantas adultas está atrelado à obtenção de materiais juvenis, seja pelo uso de partes juvenis da planta, seja pelo revigoração de propágulos maduros. A miniestaquia seriada é uma das técnicas utilizadas para manter ou reverter a juvenilidade das plantas e consiste na coleta de brotações de miniestacas previamente enraizadas. Em *Eucalyptus* spp., a miniestaquia seriada proporciona o revigoração de alguns clones, aumentando a rapidez de enraizamento, o número de raízes por miniestaca, o vigor da parte aérea e do sistema radicular das mudas, principalmente em clones com baixo potencial de enraizamento (Wendling e Xavier, 2003a; Wendling e Xavier, 2005a; Wendling e Xavier, 2005b; Xavier et al, 2009).

O cedro australiano não possui dificuldade de enraizamento quando propagado por miniestaquia, porém quanto à qualidade do sistema radicular, apresenta menor número de raízes de primeira ordem e comprimento total de raízes ao ser comparado com mudas produzidas via seminal. A utilização de materiais geneticamente revigorados poderá resultar na obtenção de mudas com sistema radicular mais robusto, com maior número e comprimento de raízes. O uso de mudas com um sistema radicular bem formado poderá refletir em melhores condições de adaptação inicial no campo (Ferreira et al. 2012a; Silva et al. 2012; Lamônica, 2013).

Em minijardins de cedro australiano, formados a partir de materiais obtidos em campo, observam-se características morfológicas, como o tamanho de folhas e folíolos das minicepas excessivamente longos, com aspecto de plantas adultas, o que se mostra desfavorável ao manejo comercial do minijardim (Lamônica et al., 2012; Lamônica, 2013). No entanto, com a miniestaquia seriada espera-se obter minicepas mais produtivas, com características morfológicas mais juvenis, reduzindo a necessidade de podas no minijardim e na confecção das miniestacas. Além disso, espera-se que sejam produzidas mudas com sistema radicular de melhor qualidade.

2. OBJETIVOS

Avaliar a miniestaquia seriada e o cultivo de resgate do campo, quanto à produtividade, à qualidade do enraizamento e ao crescimento das mudas de três clones de cedro australiano, bem como o aspecto morfológico das brotações das minicepas e a anatomia da base do caule das miniestacas enraizadas de dois dos clones.

2.1 Objetivos específicos

- Avaliar a sobrevivência e produtividade de minicepas de três clones de cedro australiano nos subcultivos por miniestaquia seriada e cultivo de resgate do campo;
- Comparar o aspecto morfológico das brotações das minicepas de três clones de cedro australiano em subcultivos e em cultivo de resgate do campo;
- Avaliar o enraizamento de miniestacas e a qualidade final das mudas dos três clones em cada subcultivo e em cultivo de resgate do campo;
- Observar a presença de barreiras mecânicas ao desenvolvimento de raízes de miniestacas enraizadas de dois clones de cedro australiano em cada subcultivo e em cultivo de resgate do campo.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Cedro australiano (*Toona ciliata* var. *australis*)

Toona ciliata está amplamente difundida entre os paralelos 15 e 25° N, ocorrendo na Índia, em Bangladesh, na Birmânia, na Tailândia, na China meridional, na Indonésia, na Malásia e nas Filipinas. A variedade *australis* encontra-se na Austrália Tropical entre os paralelos 15 e 30° S. Ao ser introduzida no Brasil, as condições edafoclimáticas foram favoráveis ao seu crescimento, principalmente no sul do estado da Bahia e em toda região Sudeste (Lamprecht, 1990; Pinheiro et al., 2003).

O cedro australiano é uma angiosperma de rápido crescimento, podendo atingir cerca de 50 m de altura e 2 m de diâmetro. Com relação aos aspectos morfológicos, seu tronco é retilíneo e se bifurca quando tem essa característica genética e quando não submetido à desrama. Visualmente possui casca grossa, dura, com deiscência em placas retangulares e escamiformes, de coloração cinza a marrom, com manchas de líquens. As folhas são alternadas, pecioladas e paripenadas, com pouca pilosidade e com substâncias em sua composição, que exalam cheiro agradável, sendo utilizada na indústria de cosméticos e perfumaria (Pinheiro et al., 2003; Souza et al., 2010).

As plantas desta espécie são alógamas e possuem flores unissexuais, com florescimento entre setembro e novembro e frutificação entre janeiro e março, com sazonalidade definida. Entretanto, devido a fatores ambientais, pode

haver antecipação no florescimento, frutificação e, conseqüentemente, colheita de sementes (Pinheiro et al., 2003; Souza et al., 2010).

O cedro australiano é uma espécie de ciclo produtivo relativamente curto, quando comparado com espécies nativas exploradas para serraria, com madeira de propriedades físico-mecânicas de grande valor para a indústria moveleira, além de ser utilizada para fabricação de compensados, aglomerado, portas e janelas, na construção de aviões e navios, fabricação de instrumentos musicais e lápis (Paiva et al., 2007).

De acordo com Murakami (2008), o cedro australiano possui madeira similar à dos cedros nativos (*Cedrela odorata* e *Cedrela fissilis*), com coloração avermelhada brilhante, boa durabilidade, fácil secagem e desdobro. A madeira desta espécie é macia e de textura grossa, com densidade aproximada de 0,33 a 0,60 g cm⁻³. Ricken et al. (2011) destacam que tratamentos silviculturais, como desrama e desbastes, são essenciais na condução dos povoamentos de cedro e possibilitam, respectivamente, a redução da área de nós, evitando a depreciação da madeira e o aumento do rendimento por hectare, priorizando árvores com maior diâmetro e favorecendo seu crescimento pelo manejo adequado.

Toona ciliata se apresenta como uma espécie promissora no segmento de madeira serrada em virtude do seu rápido crescimento, da boa produtividade e do valor comercial atraente, podendo contribuir com a geração de mais um aporte econômico para o país, além de levar à redução da velocidade de exploração das matas nativas remanescentes (Murakami, 2008; Souza et al., 2010).

Com relação às exigências climáticas, o cedro australiano cresce em áreas com precipitação anual de 1.100 mm, com possível estabelecimento em regiões de baixas e elevadas altitudes, com até 1.700 m, porém com redução na velocidade de crescimento em maiores altitudes. A temperatura ótima para os povoamentos fica em torno de 20 a 26 °C, sendo tolerante a temperaturas mínimas absolutas pouco abaixo de 0 °C (Souza et al., 2010).

Por ser de origem tropical, necessita de elevados índices de radiação solar para seu rápido desenvolvimento, embora seja apto a suportar leve sombreamento na fase juvenil (Dordel et al., 2010). Os indivíduos de *Toona ciliata* não suportam solos arenosos pobres, nem argilosos compactados e mal drenados, além de solos de baixo valor de pH, sendo necessária a correção da acidez nesses casos (Pinheiro et al., 2003; Murakami, 2008; Souza et al., 2010).

O sistema radicular secundário do cedro australiano é superficial, necessitando de bom abastecimento de água e nutrientes minerais nos horizontes mais superficiais (horizonte A) e de acordo com Pinheiro et al. (2003), na prática, percebe-se uma preferência da espécie desenvolver-se melhor em solos de encosta, onde há maior disponibilidade de água e nutrientes e a radiação não é limitante.

Braga (2011), com o objetivo de avaliar a influência da saturação de bases (20, 40, 80 e 100%) sobre o crescimento inicial e a qualidade de mudas de cedro australiano em casa de vegetação, observou que a elevação da saturação de bases afetou o crescimento em altura, diâmetro de coleto, matéria seca de raízes, parte aérea e total das mudas. Na ausência de calagem, o autor relata que foram observados sintomas visuais de deficiência de Ca e Mg que limitaram o crescimento das mudas, apontando que, com elevação da saturação de bases para 50%, valor este estimado pelo ponto de máximo com derivação da equação, é possível maximizar a produtividade desta espécie.

O efeito da nutrição mineral no crescimento de mudas de cedro australiano sob omissão de nutrientes foi estudado por Moretti et al. (2011) e os autores observaram elevada exigência nutricional da espécie, sendo os nutrientes P, N, S, Ca, K, Mg e Cu, nesta ordem, os mais limitantes ao crescimento das plantas. Além disso, a aplicação de calcário foi essencial para o bom desenvolvimento das plantas e a omissão de B e Zn não afetou seu crescimento.

No campo a espécie apresenta dano moderado ao ataque de cupins (*Cryptotermes brevis*), sendo atacada também por formigas cortadeiras (*Atta sexdens rubropilosa* e *Atta laevigata*), besouro serrador (*Oncideres* sp) e erva de passarinho (*Struthanthus flexicaulis*). O cedro australiano não sofre os danos causados pelo broqueador das gemas apicais das meliáceas (*Hypsipyla grandella*), praga que pode comprometer a produção de madeira em outras espécies da mesma família, como os cedros (*Cedrela* spp.) e o mogno (*Swietenia* sp.), depreciando assim o valor comercial da tora (Mangialavori et al., 2003; Kalil Filho et al., 2010; Sementes Caiçara, 2013).

3.2. Propagação do cedro australiano

A propagação do cedro australiano tem sido feita por sementes, porém fatores como a dificuldade de coleta, a rápida perda de viabilidade das mesmas e a variabilidade genética limitam o cultivo da espécie. De acordo com Souza et al. (2010), a coleta dessas sementes é anual e dificultada pelo grande porte das árvores e pela posição e deiscência dos frutos, que fazem com que as sementes sejam dispersadas rapidamente. Quanto à sua viabilidade, Scocchi et al. (2006) afirmam que quando armazenadas em temperatura ambiente média de 27 °C, as sementes perdem 50% do seu poder germinativo em quatro meses e 100% em nove meses.

A propagação vegetativa é uma alternativa para superação dos obstáculos na propagação via sementes e na clonagem de genótipos superiores de espécies florestais (Dias et al., 2012). Essa técnica tem como finalidades acelerar o crescimento, aumentar a produtividade, a homogeneidade dos plantios e produzir madeira de qualidade (Alfenas et al., 2004).

Com vista à produção de mudas de cedro australiano por propagação vegetativa, estudos indicam o potencial da técnica de miniestaquia, porém sem conhecimentos acerca do potencial produtivo dos clones obtidos. Souza et al. (2009), ao produzirem miniestacas a partir de minicepas provenientes de sementes, destacam sua capacidade de enraizamento sem a necessidade de auxina e a tolerância das minicepas a coletas sucessivas (10, 18 e 22 dias após recepa para implantação do minijardim) de miniestacas, o que, segundo os autores, possibilita a clonagem da espécie pela técnica.

Moraes et al. (2014) ao avaliarem, em dois ambientes, o enraizamento de miniestacas de diferentes propágulos (miniestaca caulinar apical, miniestaca caulinar intermediária, estaca foliar e estaca foliar com cruzeta), obtidos de mudas seminais de cedro australiano, verificaram alto potencial de enraizamento, acima de 90%, de miniestacas caulinares e foliares, entretanto nas miniestacas foliares não foi observada emissão de brotações e formação de parte aérea durante o período de enraizamento. Além disso, observaram a necessidade de ambiente com nebulização intermitente e umidade relativa elevada (80-100%) para o enraizamento de miniestacas de cedro australiano. Segundo Ferreira et al. (2012a), não há diferença na sobrevivência e no enraizamento de miniestacas

advindas das posições basal, intermediária ou apical das brotações laterais de minicepas provenientes de sementes de *Toona ciliata*.

Ao avaliar o enraizamento de miniestacas e a produtividade de minicepas, oriundas de sementes, de cedro australiano manejadas em sistemas de canaletões e tubetes, Silva et al. (2012) constataram que as minicepas apresentaram 100% de sobrevivência nos dois sistemas, não havendo queda na produtividade das minicepas ao longo de coletas sucessivas. Os autores também destacam que as minicepas conduzidas em sistema de canaletão produziram 270% de miniestacas a mais do que as minicepas manejadas em tubetes, no período de sete meses.

Lamônica et al. (2012) buscaram avaliar três diferentes técnicas de resgate de materiais adultos de cedro australiano, para posterior multiplicação por miniestaquia: obtenção de ramos epicórmicos pelo anelamento parcial dos troncos das matrizes a uma altura de 20 cm do solo; obtenção de brotação de galhos das árvores, selados nas extremidades com parafina e submetidos à nebulização, em leito de areia, e a coleta das brotações produzidas nas cepas, após corte raso das matrizes. Os mesmos obtiveram sucesso na formação de minijardim clonal a partir de mudas originadas das brotações das matrizes que passaram por corte raso.

Pereira (2014) teve por objetivo elaborar um protocolo para o resgate vegetativo e a propagação via estaquia de indivíduos adultos selecionados de cedro australiano, efetuando a aplicação de diferentes formas de resgate: corte raso, anelamento e semianelamento. Com as brotações resultantes do resgate vegetativo foi testado também o enraizamento das estacas em cada uma das técnicas com a influência do AIB (6000 mg L^{-1}). O método de resgate de material vegetativo por corte raso proporcionou a maior produção de brotos nas três coletas realizadas (60, 120 e 180 dias após a recepa), apresentando um percentual de enraizamento de estacas com aplicação de AIB de 32%. Enquanto os métodos de anelamento ou semianelamento, apesar de uma produção menor de brotos por árvore, apresentaram 35 e 55,5% de estacas enraizadas, respectivamente. Além disso, o autor verificou que o enraizamento das estacas, em presença de AIB, variou em função da quantidade de folíolos por estaca, em que estacas sem folíolos não enraizaram, estacas com folíolos reduzidos à

metade, tiveram 23,3% de percentual de enraizamento e estacas com folíolos inteiros, 56,7%.

Lamônica (2013) após avaliar e comparar a produtividade de minicepas clonais, produzidas por miniestaquia a partir de brotações de cepas adultas de três matrizes de cedro australiano, observou que as minicepas dos clones apresentaram alto percentual de sobrevivência ao longo das dez coletas realizadas, variando de 95,2 a 100%. Além disso, o número de brotações das minicepas e de miniestacas produzidas dos clones aumentou ao longo das coletas sucessivas e não foram observadas reduções no enraizamento das miniestacas e na qualidade das mudas produzidas ao longo das coletas.

A fim de avaliar os efeitos de doses de paclobutrazol (PBZ) no número de axilas e cicatrizes foliares e na produtividade de minicepas de minijardins clonais de *Toona ciliata*, Maluleque (2014) conduziu minijardim em canaletões com leito de areia, utilizando mudas produzidas por miniestaquia de quatro clones de cedro australiano e quatro doses de PBZ (0, 15, 30 e 60 mg L⁻¹). O autor observou que houve diferença entre os clones estudados e que a dose de 15 mg L⁻¹ de PBZ proporcionou maior número de axilas e cicatrizes foliares em dois dos clones avaliados, além do aumento de 14,7% no total de miniestacas produzidas no intervalo de 229 dias, em relação às plantas não tratadas.

Souza et al. (2014) avaliaram a produtividade ao longo do tempo de minicepas, produzidas por via seminal, em dois sistemas de minijardim multiclonal de *Toona ciliata*, conduzidos em tubete e canaletão, submetidos, respectivamente, a cinco e três coletas sucessivas de miniestacas. Os autores concluíram que a produtividade das minicepas manejadas no sistema canaletão, em média 2,5 miniestacas por minicepa/coleta, foi superior ao sistema tubete que teve em média 1 miniestaca por minicepa/coleta.

A associação da cultura de tecidos com a multiplicação em minijardins pode trazer vantagens na seleção de matrizes com características superiores, permitindo sua multiplicação em grande escala e maior uniformidade das plantas (Grattapaglia e Machado, 1998). Estudos da técnica, aplicada à cultura do cedro australiano, ainda são incipientes.

Mroginski et al. (2003), a fim de estudar a regeneração *in vitro* de cedro australiano, utilizaram segmentos nodais e gemas terminais de ramos não lignificados de mudas com dois anos de idade em viveiro e de brotações obtidas

através de partes da planta de 10 anos de idade colocadas para emitir brotações em câmara úmida. Concluíram que a espécie pode ser facilmente propagada por cultivo *in vitro* por segmentos nodais de árvores de dois anos de idade, porém não obtiveram sucesso no enraizamento de explantes de árvores com 10 anos de idade. Daquinta et al. (2005), com objetivo de promover a formação de calos e a regeneração de *Toona ciliata* por propagação *in vitro*, alcançaram bom resultado, com a formação de calos nodulares, tendo boas características morfogênicas, além da formação de brotos a partir de calos de seis meses de idade e o enraizamento desses brotos em meio de cultivo MS com 1 mg L⁻¹ de auxina.

Frank et al. (2011), visando estudos futuros de micropropagação, avaliaram a germinação *in vitro* de sementes de *Toona ciliata* em quatro condições de cultivo, variando o meio de cultura (MS e B5) e a condição de iluminação (fotoperíodo de 16 horas e sem iluminação). Os autores concluíram que o melhor tratamento para germinação de *Toona ciliata in vitro* é o meio B5 no escuro, proporcionando maior quantidade de explantes.

Oliveira et al. (2014), a fim de avaliar o efeito de duas concentrações de cloro ativo (NaClO 1 e 2%), na eliminação de microrganismos, e a influência de diferentes meios de cultura (MS e WPM) no estabelecimento *in vitro* de cedro australiano, avaliaram, após 30 dias, a porcentagem de brotações e contaminação por fungos e bactérias e observaram maior percentual de brotações (72%) no meio WPM 1% e as menores percentagens de contaminação (10% para fungos e 4% para bactérias) no tratamento de WPM 2%.

3.3. Miniestaquia seriada

Em espécies lenhosas, mudanças progressivas, tais como características morfológicas e de desenvolvimento, como forma de folha, padrão de ramificação, crescimento da parte aérea, vigor e capacidade de formar gemas e raízes adventícias, diminuem com a idade das matrizes, decorrente da transição da fase juvenil para a fase madura, o chamado envelhecimento ontogenético (Hartmann et al., 2011).

Entretanto, em uma mesma árvore, existem zonas que mantêm a juvenilidade por mais tempo e são capazes de responder a estímulos para a produção de material vegetativo fisiologicamente juvenil. Essas zonas com maior

juvenilidade são aquelas situadas mais próximas à base da árvore, consideradas mais jovens em idade ontogenética (Bonga e von Aderkas, 1992; Hackett e Murray, 1993).

O fator juvenilidade dos propágulos exerce grande influência no enraizamento de estacas e, de acordo com Fachinello et al. (2005), é possível que este fato esteja relacionado com o aumento no teor de inibidores e com a diminuição no teor de cofatores de enraizamento à medida que aumenta a idade da planta. Logo, o primeiro passo após a seleção de árvores superiores é a obtenção de brotações fisiológica e ontogeneticamente juvenis, dessa forma, mais aptas ao enraizamento (Alfenas et al., 2004).

A miniestaquia seriada é o método mais comum de revigoração/rejuvenescimento empregado em viveiros e é utilizado para restaurar ou manter o estado juvenil de uma planta madura. Consiste na propagação repetida de miniestacas a partir de outras miniestacas enraizadas recentemente (Wendling e Xavier, 2003a; Wendling et al., 2014).

Wendling e Xavier (2003a) avaliaram a técnica da miniestaquia seriada no revigoração de clones de *Eucalyptus grandis*, obtendo ao final do experimento melhor enraizamento, sobrevivência e vigor radicular em clones com baixo potencial de enraizamento, comprovando a eficiência da técnica.

Wendling et al. (2003b) destacam que a implantação de minijardins clonais com minicepas revigoradas permite a obtenção de maior vigor e qualidade dos brotos produzidos por miniestaquia, principalmente em relação ao seu potencial de enraizamento. Ao avaliarem a influência da miniestaquia seriada na propagação vegetativa de clones de *Eucalyptus grandis*, os autores concluíram que a sobrevivência das minicepas foi superior a 96% após sete coletas de miniestacas, para todos os clones e subcultivos. No entanto, os subcultivos não resultaram em aumento de vigor das minicepas.

Já em relação ao efeito da miniestaquia seriada no vigor radicular de clones de *Eucalyptus grandis*, Wendling e Xavier (2005a) observaram uma tendência de aumento no número e comprimento de raízes por miniestaca com a elevação no número de subcultivos na maioria dos clones avaliados, indicando maior vigor inicial. Devido à boa habilidade de propagação vegetativa de um dos clones, os subcultivos interferiram negativamente no comprimento total de raízes, levando ao entendimento de que em materiais com bom grau de juvenilidade não

se obtêm resultados positivos no que diz respeito ao revigoramento pela miniestaquia seriada.

Wendling e Xavier (2005b) destacam que os subcultivos de miniestaquia seriada de clones de *Eucalyptus grandis* se mostraram eficientes na promoção de maiores índices de sobrevivência das miniestacas 50 dias após o estaqueamento, independente das doses de AIB aplicadas, nos clones CC10 e CC15. No clone CC10 a média geral de sobrevivência aumentou 28,6% nos subcultivos 5 e 7 em relação aos subcultivos 1 e 3, este aumento foi de 28,4% para o clone CC15. De acordo com os autores esses clones apresentavam menor grau de juvenildade e, por consequência, menores índices de enraizamento e sobrevivência, sendo assim responderam melhor ao revigoramento, destacando a eficiência da técnica para clones e espécies com dificuldade de enraizamento na fase adulta.

Em estudo realizado por Altoé e Marinho (2012) não foi observada diferença significativa, aos 145 dias após o estaqueamento, entre o subcultivo de goiabeira 'Paluma' por miniestaquia seriada, em relação às mudas produzidas por miniestacas de primeiro cultivo (mudas obtidas a partir de minicepas formadas pelo processo de estaquia convencional), apresentando a mesma área foliar, número de folhas e massa de matéria seca da parte aérea e do sistema radicular.

Ao avaliarem a sobrevivência e o enraizamento de miniestacas seriadas de goiabeiras das cultivares Paluma, Pedro Sato e Cortibel 6, Freitas et al. (2013) relataram que não houve diferença no número de raízes adventícias primárias, assim como no comprimento total das raízes emitidas pelas miniestacas oriundas do primeiro (miniestaquia) e do segundo cultivo (miniestaquia seriada). Os autores concluíram que, ao apresentar sobrevivência e enraizamento semelhantes, ambos os processos podem ser empregados na multiplicação dessas cultivares.

3.4. Anatomia e enraizamento adventício

As características que constituem a base anatômica que torna possível a regeneração de uma nova planta a partir de um fragmento de uma planta matriz, a propagação vegetativa, são a totipotência e a desdiferenciação, esses processos são básicos do crescimento vegetativo normal, porém não são homogêneos entre as espécies, determinando que algumas apresentam

facilidade e outras, dificuldade na emissão de raízes adventícias (Husen e Pal, 2006).

As raízes formadas em estacas são denominadas adventícias, que são raízes que se originam de partes aéreas das plantas. A origem e o desenvolvimento dessas raízes, geralmente, são endógenos e elas se formam nas proximidades dos tecidos vasculares, crescendo entre os tecidos localizados ao redor do seu ponto de origem (Apezzato-da-Glória e Carmello-Guerreiro, 2006). As células apresentam totipotência, que é o conceito de que toda célula carrega a informação genética necessária para originar um novo indivíduo, exatamente igual ao que lhe deu origem, no entanto, nem todas são capazes de se desdiferenciar. Muitas células que originam as raízes adventícias apresentam essa característica e com isso a capacidade de se tornarem meristemáticas (Hartmann et al., 2011).

O processo de formação de raízes adventícias passa por três fases: a desdiferenciação celular, que consiste na perda das características e funções específicas de células diferenciadas, nesta fase a célula deve adquirir competência celular (potencial de uma célula a se desenvolver em uma direção particular, como a formação de raízes adventícias) e tornar-se determinada (grau em que as células estão comprometidas para a formação de um órgão específico), ocorrendo nesta fase a iniciação dos grupos de células meristemáticas; a diferenciação destes grupos de células meristemáticas em primórdios radiculares; e a emergência e o crescimento das novas raízes (Hartmann et al., 2011).

O primórdio da raiz adventícia inicia-se por divisões de células do parênquima, semelhante às divisões que dão origem às raízes laterais a partir do periciclo das raízes jovens. Antes de a raiz adventícia emergir, ela diferencia um promeristema, uma coifa, o início do cilindro vascular e o córtex. Com o desenvolvimento, o primórdio aumenta em tamanho e se projeta para o córtex. Para a formação dos elementos vasculares das raízes adventícias, células de calos ou de outros parênquimas, localizadas na parte proximal do primórdio se diferenciam em elementos vasculares, possibilitando a conexão com os elementos correspondentes do novo órgão em formação (Raven et al., 2001; Apezzato-da-Glória e Carmello-Guerreiro, 2006).

Em plantas perenes lenhosas as raízes adventícias de estacas de ramos originam-se geralmente do tecido do floema secundário jovem, podendo também surgir de tecidos como do câmbio, dos raios vasculares ou da medula. Nas espécies de difícil enraizamento, as raízes se originam do tecido cicatricial através de divisões do câmbio e do parênquima floemático ou de outra célula capaz de se desdiferenciar (Altman e Waisel, 1996).

Com o objetivo de conhecer o padrão de rizogênese de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*, Goulart et al. (2014) observaram que a formação endógena de primórdios radiculares e a proliferação e formação de uma massa de células desorganizadas (calos) das miniestacas dos clones avaliados ocorrem entre 8 e 12 dias de idade, a partir de células presentes na região do câmbio vascular.

O floema de espécies de difícil enraizamento é caracterizado pelo seu elevado grau de esclerificação (Davies e Hartmann, 1988). O esclerênquima é um tecido de sustentação composto por células de parênquima, além de fibras e esclereídes, que constituem células com a parede secundária espessa e lignificada, e o aumento do teor de lignina nos tecidos pode criar barreiras mecânicas e exercer influência direta na capacidade de enraizamento de várias espécies (Raven et al., 2001). Fachinello et al. (2005) comentam que a formação de um anel de esclerênquima altamente lignificado pode ser uma das causas da dificuldade de enraizamento de algumas espécies.

Lovell e White (1986) julgam que a aptidão dos tecidos internos ao anel esclerenquimático em se desdiferenciar poderia ser mais importante do que o impedimento mecânico à emergência das raízes causado pela presença do anel na formação dos primórdios radiculares. Ono e Rodrigues (1996) consideram ainda que a facilidade ou dificuldade de enraizamento em diferentes espécies pode estar inversamente relacionada com a continuidade da camada de esclerênquima.

Segundo Hartmann et al. (2011), a quebra da continuidade do anel de esclerênquima por atividade meristemática não é o suficiente para o enraizamento de algumas espécies. Enquanto Medrado et al. (1995) apontam que, embora a quebra da continuidade da barreira de esclerênquima não seja um fator condicionante para o enraizamento, deve facilitar a passagem de primórdios radiculares.

Com o objetivo de analisar a estrutura anatômica de estacas de quatro cultivares de *Vitis L.*, e relacioná-la com a capacidade de enraizamento destas, Mayer et al. (2006) avaliaram após 77 dias do estaqueamento, em casa de vegetação, o percentual de enraizamento e realizaram coletas de amostras das bases das estacas para caracterização anatômica. As cultivares Kobber 5BB, SO4 e Bordô apresentaram, respectivamente, 95, 95 e 81,6% de estacas enraizadas e a cultivar Topsail 1,7%. Nesta última, foi observada a presença de fibras espessas no floema secundário e de calotas de fibras do floema primário, que, possivelmente, conferiram barreira anatômica ao enraizamento. Além disso, foi observada maior concentração de compostos fenólicos nessa cultivar, principalmente no raio, um possível sítio de origem das raízes adventícias. Os autores sugerem estudos bioquímicos, além da ontogênese das raízes adventícias, a fim de definir quais são os fatores que realmente interferiram no enraizamento das estacas da cultivar Topsail.

Peixe et al. (2007), com o objetivo de observar características na anatomia do caule que pudessem ajudar a compreender a diferença na taxa de enraizamento de estacas semilenhosas das cultivares de oliveira 'Cobrançosa' e 'Galega vulgar', que atingem, respectivamente, 70% e 10% de estacas enraizadas, concluíram que a presença de um anel de esclerênquima, nas duas cultivares, devido à sua descontinuidade, não se mostrou determinante na explicação da dificuldade de enraizamento da 'Galega vulgar'.

Amissah et al. (2008) investigaram a relação da anatomia do caule e diferenças na capacidade de enraizamento entre estacas *Quercus bicolor* Wild. e *Quercus macrocarpa* Michx., importantes espécies madeireiras da América do Norte, e observaram que a porcentagem de enraizamento em *Q. bicolor* foi significativamente maior do que em *Q. macrocarpa*, e que esta última teve o maior desenvolvimento de esclerênquima. Entretanto, os autores concluem que o baixo enraizamento em *Q. macrocarpa* pode ser devido à incapacidade das estacas em formar primórdio ou a outros fatores que afetam o enraizamento, mais especificamente, às condições fisiológicas que promovem enraizamento ao invés de um resultado de restrições mecânicas ao crescimento dos primórdios radiculares pelo anel de esclerênquima.

Ao comparar brotações com características juvenis e adultas, derivadas da mesma planta de macieira, Beakbane (1961) concluiu que as brotações

juvenis apresentavam floema primário relativamente isento de células esclerificadas. Adicionalmente, o autor verificou que existe uma correlação entre o grau de esclerificação do floema primário e a aptidão para enraizamento. Appezzato-da-Glória e Carmello-Guerreiro (2006) destacam que em caules mais velhos, a presença de uma bainha de esclerênquima perivascular pode constituir um obstáculo ao crescimento de raízes adventícias levando ao desvio do seu curso, normalmente radial.

Bastos (2005), comparando anatomicamente estacas herbáceas, semilenhosas e lenhosas de caramboleira, não observou crescimento secundário do caule da base de estacas herbáceas e semilenhosas, entretanto, em estacas lenhosas foi observada a presença de floema e xilema secundários, além da formação de uma bainha de fibras do floema ao redor dos feixes vasculares, essas células apresentavam paredes mais espessas, lignificadas, formando um anel em volta do xilema e floema primários, podendo isto exercer influência direta no enraizamento. Da mesma forma, Bortolini et al. (2008), ao caracterizarem anatomicamente estacas semilenhosas de *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn, concluíram que não existiam barreiras anatômicas que pudessem prejudicar o enraizamento da espécie, e que a variação das taxas de enraizamento estariam ligadas a outros fatores, como a época de coleta das estacas.

Elbasheer e Elkalifa (2007), com o objetivo de obter melhor visão sobre o papel da anatomia no enraizamento, destacando a influência de tecidos lignificados que cercam o procâmbio e os raios e as camadas do floema primário, analisaram estudos de propagação vegetativa de *Eucalyptus Microtheca*, *Grewia tenax*, árvores adultas rejuvenescidas de *Acacia senegal*, e árvores jovens de *Sterculia setigera*. Os autores destacaram que o enraizamento de plantas lenhosas pode ser relacionado com o grau de lignificação do floema primário e que pode se formar uma malha tubular contínua ou não em torno do feixe vascular, isto apoiaria a explicação de que o efeito da lignificação do tecido poderia ser físico, mas não seria a principal causa de incapacidade de enraizamento de estacas, devido ao fato de que as raízes iniciais em plantas não se formariam apenas dentro dessa bainha de esclerênquima. Além disso, o grau de lignificação pode variar consideravelmente entre estacas obtidas de partes juvenis ou adultas em uma mesma planta e assim aumentar ou diminuir a capacidade de enraizamento. Sendo assim, o enraizamento pode ser facilitado

pelo uso de brotações juvenis ou pelo uso de técnicas para reverter a juvenilidade de tecidos adultos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Instalação do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Unidade de Apoio à Pesquisa (UAP), da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, localizada na latitude 21°19'23" (S) e longitude 41°19'41" (W), no município de Campos dos Goytacazes-RJ. De acordo com a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Aw, tropical quente e úmido, com período de estiagem no inverno e chuvoso no verão.

Durante todo período de estudo foram monitoradas a temperatura e a umidade relativa do ar na câmara de nebulização e na casa de vegetação (Figura 1), utilizando-se data logger modelo RHT10 (Extech Instruments), com programação de leitura a cada hora.

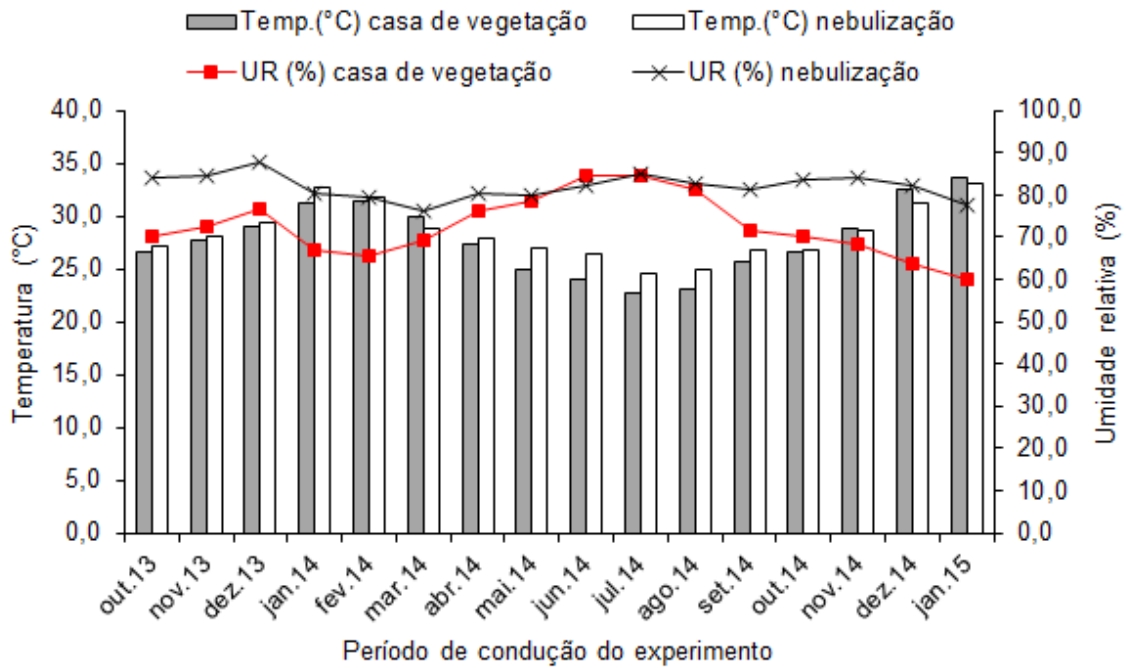


Figura 1: Dados de Temperatura (°C) e Umidade Relativa do ar (%), na casa de vegetação e câmara de nebulização, durante o período do experimento.

O experimento consistiu no estabelecimento e na comparação de subcultivos por ministaquia de clones de *Toona ciliata*, cujos propágulos foram obtidos a partir da brotação de cepas de matrizes cortadas aos cinco anos, e cultivo de resgate do campo, oriundo da coleta de brotações de cepas dos mesmos clones, realizada dois anos após o corte raso.

4.2. Origem das matrizes

As matrizes de cedro australiano (*Toona ciliata* var. *australis*) foram selecionadas em um povoamento localizado no município de Santa Maria Madalena-RJ, latitude 22° 51' (S) e longitude 41° 09' (W), a 118 m de altitude. Este povoamento, implantado no segundo semestre de 2005, possui espaçamento 3 x 2 m e as mudas utilizadas são oriundas de sementes procedentes de plantios no Espírito Santo.

A seleção dessas matrizes foi baseada em estudos realizados por Tavares et al. (2012) e Ferreira et al. (2012b) e feita cinco anos após a instalação do povoamento. Com base nos resultados desses trabalhos, os autores avaliaram

30 matrizes no povoamento e de acordo com características relacionadas à produção de madeira e à divergência genética entre elas, foram selecionadas três árvores.

4.3. Coleta e tratamento do material a ser propagado

As árvores matrizes, selecionadas por Tavares et al. (2012) e Ferreira et al. (2012b), foram submetidas a corte raso em setembro de 2011 em estudo de Lamônica et al. (2012). Em novembro de 2011, Lamônica (2013) coletou as brotações das cepas e as utilizou para multiplicação e formação das minicepas para a produção de mudas.

Em agosto de 2012, Lamônica (2013) estabeleceu o minijardim clonal em canaletões utilizando as mudas de cada matriz resgatada. Foi realizada a poda apical das mudas a 8 cm da base, para a formação das minicepas e estas tiveram sua produção de miniestacas avaliada a cada 21 dias. As matrizes foram nomeadas como TC3, TC9 e TC15 (*Toona ciliata* – TC).

Para a obtenção do primeiro subcultivo (SUB1), por miniestaquia seriada, foram utilizadas miniestacas provenientes da 13ª poda de minicepas, com 13 meses de exploração.

Uma nova coleta de propágulos das matrizes em campo foi realizada em outubro de 2013 (23 meses após a primeira), coletando-se as novas brotações das cepas com auxílio de uma tesoura de poda. O material coletado foi acondicionado em caixas de isopor e para evitar a desidratação durante o transporte do campo até a casa de vegetação, foi umedecido. As brotações recém-chegadas foram cortadas para formação das miniestacas com 5 cm de comprimento, sendo mantido um par de folíolos com área reduzida à metade.

As miniestacas do SUB1 e de resgate do campo foram estaqueadas em tubetes cônicos de polipropileno com capacidade de 280 cm³, contendo substrato comercial à base de casca de pinus decomposta e adubo de liberação lenta (15-9-12), na concentração de 8 g kg⁻¹ de substrato. Na tabela 1 são apresentados os resultados da análise química de amostra do substrato utilizado.

Tabela 1: Resultado analítico do substrato utilizado para produção das mudas clonais de *Toona ciliata* em casa de vegetação (substrato 1) e das amostras do substrato comercial + torta de filtro + fibra de coco, na proporção de 2:1:1 v/v/v, após adubação com ureia e superfosfato simples, utilizado para a implantação dos minijardins clonais (substrato 2)

	Substrato 1	Substrato 2
pH	4,6	5,9
CE (dS m ⁻¹)	2,7	2,6
N-Nitrato (mg L ⁻¹)	306,9	179,2
Fósforo (mg L ⁻¹)	0,4	0,8
Cloreto (mg L ⁻¹)	46,5	63,9
Enxofre (mg L ⁻¹)	124,8	175,7
N- Amônia (mg L ⁻¹)	83,1	234,1
Potássio (mg L ⁻¹)	203,9	159,8
Sódio (mg L ⁻¹)	23,7	19,6
Cálcio (mg L ⁻¹)	188,8	80,3
Magnésio (mg L ⁻¹)	4,1	1,0
Boro (mg L ⁻¹)	0,6	0,5
Cobre (mg L ⁻¹)	0,03	0,1
Ferro (mg L ⁻¹)	0,9	0,6
Manganês (mg L ⁻¹)	4,1	1,0
Zinco (mg L ⁻¹)	6,0	0,1

Método de extração: 1:1,5 (Holanda) [Sonneveld et al. (1974), descrito por Abreu et al. (2002)]. Métodos de determinação: N- (amoniaco e nitrato): destilação; K, Ca, Mg, P, S, Cu, Fe, Mn, Zn: ICP-OES. Laboratório de análise de solo e planta no Centro de Solos e Recursos Agroambientais do Instituto Agrônomo de Campinas-SP (IAC)

Após o estaqueamento, as mudas foram mantidas por 30 dias em câmara de nebulização, com cobertura plástica de polipropileno de 150 µm, tela de nylon de 30 % (Sombrite®) e tela aluminizada (Aliminet®) de 30 % de sombreamento, sob nebulização intermitente, com pulverizações de 30 segundos, a cada 15 minutos. Ao final deste período foram transferidas para a casa de vegetação e posteriormente para os canaletões.

4.4. Formação dos subcultivos e cultivo de resgate do campo

As mudas que compuseram o primeiro subcultivo (SUB1) por miniestaqueia seriada receberam uma aplicação semanal, durante seis semanas, de 20 mL por muda de solução nutritiva completa. A solução utilizada foi a de Bolles Jones (1954), com a seguinte composição: N= 8 mmol L⁻¹ (37,5% de NH₄⁺); P= 1 mmol L⁻¹; K= 3 mmol L⁻¹; Ca= 2 mmol L⁻¹; Mg= 1,25 mmol L⁻¹; S= 3,75 mmol L⁻¹; Cl= 20 mmol L⁻¹; Fe= 9 mmol L⁻¹; B= 6,6 mmol L⁻¹; Mn= 10 mmol L⁻¹; Zn= 1 mmol L⁻¹; Cu= 1 mmol L⁻¹ e Mo= 0,3 mmol L⁻¹.

As mudas do SUB1 e do campo foram transferidas dos tubetes para os canaletões, aos 195 e 150 dias após o estaqueamento, respectivamente. Para a formação das minicepas, as mudas tiveram a parte aérea podada a 8 cm da base, com a finalidade de formar o minijardim clonal.

Os canaletões de PVC possuem as seguintes dimensões: 113 x 105 x 28 cm de comprimento, largura e altura, respectivamente, contendo na base, nove furos equidistantes, com diâmetro de 2 cm, para drenagem do excesso de água da irrigação, forrados com filme agrícola de 150 µm em toda sua extensão, sobre o qual foram adicionados 5 cm de brita nº1. Sobre a brita foram colocados 8 cm de areia lavada e, sobre essa, 15 cm da mistura de substrato comercial à base de casca de pinus decomposta, fibra de coco e torta de filtro 2:1:1 v/v/v, enriquecidos com 2,2 kg m⁻³ de ureia e 1,5 kg m⁻³ de superfosfato simples, conforme metodologia utilizada por Azevedo et al. (2009). Foi coletada amostra do substrato contido nos canaletões no dia do transplântio das mudas para análise química (Tabela 1).

A partir das brotações emitidas das minicepas do SUB1 foram confeccionadas miniestacas que foram estaqueadas conforme metodologia descrita no item 4.3. As mudas formadas a partir das miniestacas enraizadas do SUB1 foram transferidas dos tubetes para os canaletões e foi realizada a recepa destas, retirando-se a parte aérea a uma altura de 8 cm da base, formando, assim, as minicepas do subcultivo 2 (SUB 2).

No SUB1 e o SUB2 foram utilizadas 32 minicepas de cada clone por canaletão, com espaçamento de 17 x 18 cm entre as minicepas. O cultivo de campo foi composto por 18 minicepas de cada clone, com o mesmo espaçamento.

As minicepas foram irrigadas durante todo o período de estudo, uma ou duas vezes ao dia, de forma que não houvesse excesso de água, evitando perdas de nutrientes do sistema de produção.

Na Figura 2 é apresentado o esquema da implantação do minijardim clonal.

A



Brotações de quatro meses das cepas aos cinco anos em campo



Minijardim estabelecido com mudas advindas de miniestacas formadas de brotações coletadas no campo



Mudas oriundas de miniestacas formadas de brotações da 13ª coleta do minijardim



Implantação e formação de minijardim



Minijardim – SUB1



Mudas oriundas de miniestacas formadas de brotações coletadas no SUB1



Minijardim – SUB2

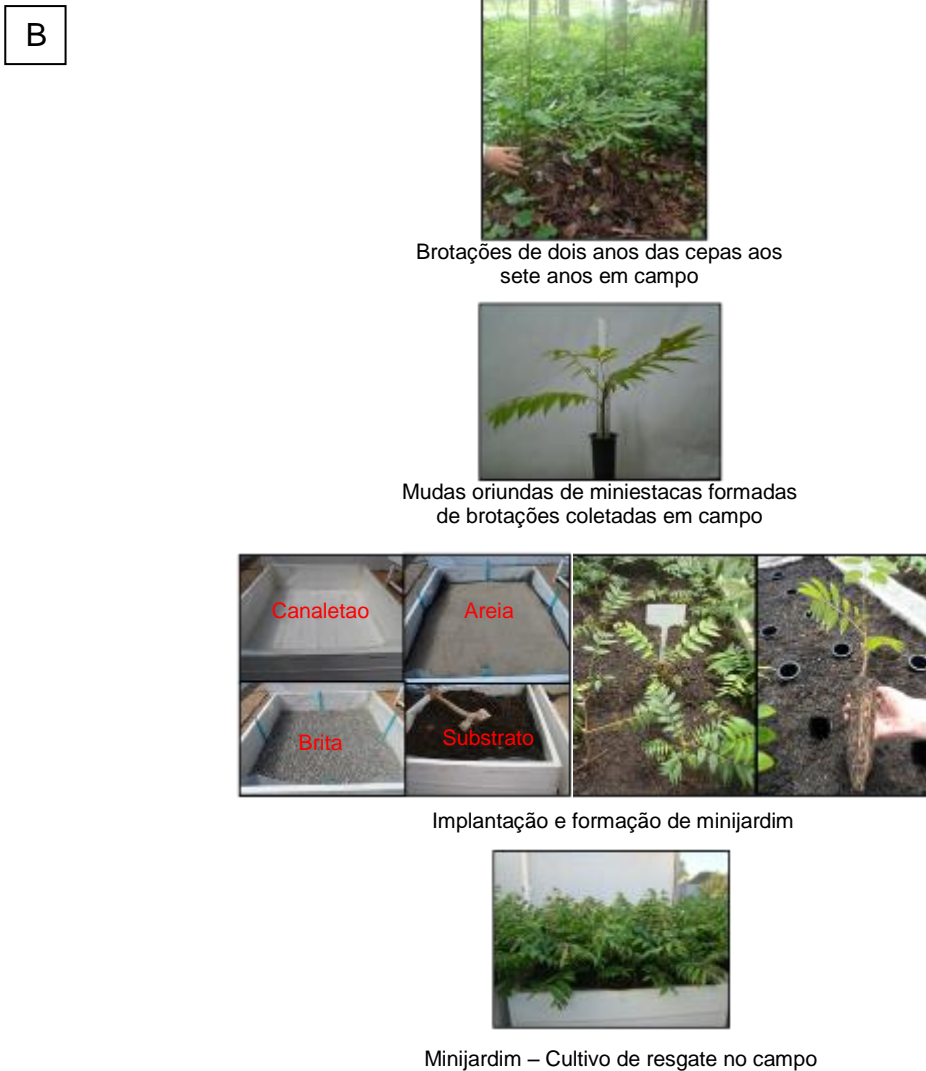


Figura 2: Implantação do minijardim clonal de *Toona ciliata*. A- Subcultivos seriados e B- Cultivo de campo, ambos a partir do resgate de brotações de cepas adultas.

4.5. Sobrevivência e produtividade das minicepas

Aos 38, 61 e 56 dias após a poda apical do SUB1, SUB2 e o cultivo de resgate do campo, respectivamente, foi realizada a primeira coleta de brotações das minicepas, que foram utilizadas para a produção das miniestacas. A partir daí, o intervalo entre as coletas foi mensal.

No presente trabalho foram apresentados os dados resultantes de sete coletas do SUB1, do SUB2 e do cultivo de resgate do campo.

No momento das coletas foram avaliados a sobrevivência das minicepas, o número de brotações e o número de miniestacas produzidas por minicepa.

As brotações foram cortadas quando tinham no mínimo 5 cm, com auxílio de tesoura de poda e as miniestacas também foram formadas com 5 cm de comprimento, no mínimo, contendo uma folha, com um par de folíolos reduzidos em 50% da área foliar.

As minicepas do SUB1, SUB2 e o cultivo de resgate do campo tiveram sua produção de brotações e miniestacas submetidas a análises descritivas.

4.6. Aspecto morfológico das brotações das minicepas

Foram selecionadas quatro minicepas de cada clone nos subcultivos (SUB1 e SUB2) e no cultivo de resgate do campo.

As minicepas foram selecionadas com base nos valores médios de altura e diâmetro no momento da formação dos minijardins. Em um ciclo de produção coincidente foi determinado também o número de folhas e folíolos por minicepa e a área foliar, utilizando-se o medidor de área eletrônico de bancada (LI-3000, LICOR Inc). Posteriormente, o material vegetal foi colocado em sacos de papel identificados e levados à estufa de circulação forçada, a $65\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 72 horas, para posterior determinação da massa seca das brotações (MSB) através de pesagem em balança analítica.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas por teste de Tukey (5%). Foram feitas também correlações de Pearson entre o número de brotações e miniestacas acumulado e as características iniciais das brotações das minicepas.

4.7. Enraizamento e qualidade das mudas produzidas por miniestaquia

Para a avaliação de enraizamento e produção de mudas dos três clones de cedro australiano no SUB1, SUB2 e no cultivo de campo, foram utilizadas as miniestacas produzidas a partir das brotações coletadas mensalmente nos minijardins clonais. Foram analisados os dados das coletas de brotações em meses coincidentes.

O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial (3x3), sendo três subcultivos e três clones, com quatro repetições, compostas por 12 miniestacas por parcela.

As miniestacas foram estaqueadas em tubetes cônicos de polipropileno, com capacidade de 280 cm³, contendo substrato comercial à base de casca de pinus decomposta e adubo de liberação lenta (15-9-12), na concentração de 8 g.kg⁻¹ de substrato, sendo levadas para câmara de nebulização por 30 dias.

Para a avaliação do percentual de enraizamento e do sistema radicular, na transferência da câmara de nebulização para a casa de vegetação, foram selecionadas, aleatoriamente, três miniestacas por parcela. Foi retirado todo o substrato com lavagem sobre peneiras para reter as raízes. Após lavagem, as miniestacas foram avaliadas quanto ao percentual de enraizamento, número de raízes de primeira ordem (NRPO) e segunda ordem (NRSO). Em seguida, as raízes foram escaneadas e analisadas no programa WinRhizo, quanto ao comprimento total de raízes, comprimento total de raízes até 2 mm de diâmetro e diâmetro médio de raízes.

As mudas restantes de cada parcela foram mantidas em casa de vegetação para aclimatização e crescimento. Ao final do ciclo de produção, 105 dias após o estaqueamento, foram avaliados o percentual de sobrevivência, a altura (H) e o diâmetro à altura do colo (DAC), respectivamente, com régua e paquímetro digital.

Com base nos valores médios de altura e DAC, foram selecionadas três mudas por parcela. Cada muda foi cortada à altura do colo e as folhas destacadas para determinação da área foliar, utilizando-se o medidor de área eletrônico de bancada (LI-3000, LI-COR Inc). Em seguida, toda a parte aérea foi colocada em sacos de papel, identificados e levados à estufa de circulação forçada a 65±2°C, por 72 horas, para posterior determinação da massa seca da parte aérea (MSPA), em balança analítica.

Para a avaliação do sistema radicular das mudas selecionadas, as raízes tiveram o substrato cuidadosamente retirado com água sobre peneiras. Após lavagem, as raízes foram avaliadas quanto ao número e comprimento de raízes de primeira ordem. Em seguida, foram escaneadas e analisadas no programa WinRhizo, quanto ao comprimento total de raízes. A determinação da massa seca do sistema radicular (MSSR) seguiu o mesmo procedimento adotado para determinação da MSPA.

Para as mudas selecionadas, também foi determinado o índice de qualidade de Dickson (IQD), a partir da fórmula: $IQD = MST / (H/DAC +$

MSPA/MSSR). Quanto maior o valor deste índice, melhor o padrão de qualidade da muda, já que se considera, no seu cálculo, a robustez e o equilíbrio da distribuição da biomassa na muda (Dickson et al., 1960; Fonseca et al., 2002).

Os dados foram submetidos aos testes de Cochran e Lilliefors, sendo realizada transformação quando os mesmos não apresentavam homocedasticidade e distribuição normal. Os dados de número de raízes de primeira e de segunda ordem, percentagem de sobrevivência e enraizamento foram transformados em $\sqrt{x+1}$ e os dados de massa seca de parte aérea e radicular, comprimento de raízes e área foliar para $\text{Log}(x+1)$ (Zimmermann, 2004). Após a transformação dos resultados, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas por teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na Figura 3 é apresentado o esquema de produção de mudas clonais de cedro australiano seguido no presente trabalho.

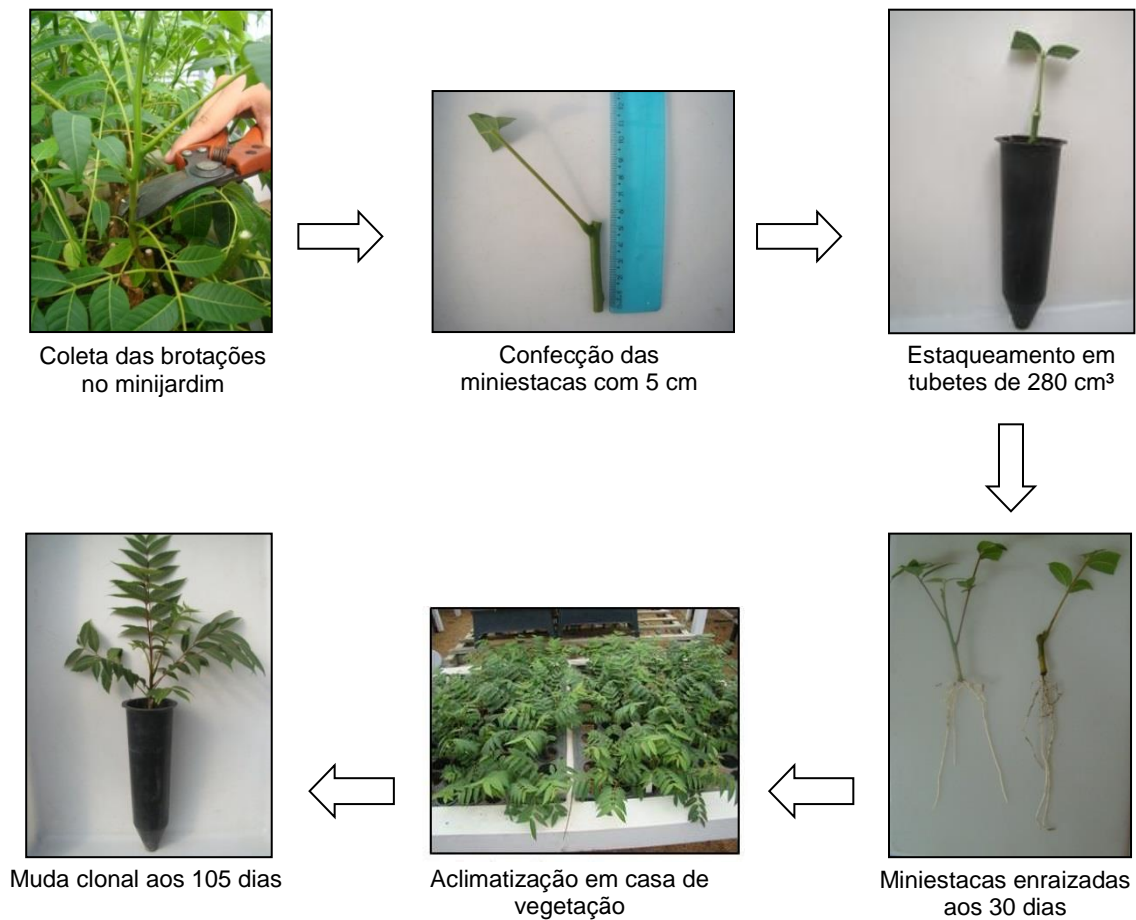


Figura 3: Esquema de produção de mudas clonais de cedro australiano (*Toona ciliata*) por miniestaquia.

4.8. Anatomia da base do caule das miniestacas após o enraizamento

Após 30 dias em câmara de nebulização, foi selecionada aleatoriamente uma miniestaca dos clones TC9 e TC15, dos subcultivos 1 e 2 e cultivo de resgate do campo, para coleta de fragmentos de caule da base das miniestacas. A seleção desses clones foi realizada em função da diferença na qualidade do sistema radicular, número e comprimento de raízes de primeira e de segunda ordem, observada por Lamônica (2013).

Os fragmentos da base das miniestacas foram fixados em solução aquosa, contendo glutaraldeído 2,5%, formaldeído 4,0% e tampão cacodilato de sódio 0,05 M em pH 7,2, à temperatura ambiente no local. Posteriormente, foram dissecados com auxílio de bisturis e pinças.

Para a microscopia óptica, as amostras fixadas foram desidratadas em série etílica crescente de 50%, 70%, 90% e três vezes 100%, por uma hora em cada etapa e infiltradas em historesina (Historesin, Leica Instruments, Heidelberg, Alemanha), utilizando-se série crescente de resina em álcool etílico, conforme recomendação do fabricante. A polimerização da resina foi realizada em temperatura ambiente. Posteriormente, foram obtidas secções transversais do material (3,0-6,0 μm de espessura), através do micrótomo de rotação (Leica RM2255). Os cortes obtidos foram dispostos em lâminas e corados com reagente safrablau, que é um método de dupla coloração, pois contém Azul de Astra, que se liga aos constituintes basófilos dos tecidos, conferindo a estes colorações que variam entre o azul e púrpura, além da Safranina, que cora de vermelho as paredes celulares lignificadas, suberificadas ou cutinizadas (Figueiredo et al., 2007). Foi realizada coloração com iodo a fim de identificar a presença de amido. A observação foi realizada em microscópio óptico de campo claro (Axioplan ZEISS) e as imagens obtidas através da câmera Cannon Power Shot 14 mpixel, acoplada ao microscópio, com o auxílio do programa Axiovision (Zeiss).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Sobrevivência e produtividade das minicepas

As minicepas dos clones de cedro australiano apresentaram alta sobrevivência tanto nos subcultivos por miniestaquia seriada (SUB1 e SUB2), quanto no cultivo de resgate do campo, com pequena redução na sobrevivência do clone TC15 no SUB1 e dos clones TC3 e TC15 no SUB2 (Tabela 2), indicando a eficiência do sistema de produção em minijardim e o bom manejo adotado.

Tabela 2: Sobrevivência de minicepas de clones (TC3, TC9 e TC15) de *Toona ciliata* em subcultivos por miniestaquia seriada (SUB1 e SUB2) e cultivo de resgate do campo, em função das coletas de brotações

Coletas de brotações (dias)	Sobrevivência (%)								
	SUB1			SUB2			Cultivo de resgate do campo		
	Clone TC3	Clone TC9	Clone TC15	Clone TC3	Clone TC9	Clone TC15	Clone TC3	Clone TC9	Clone TC15
30	100	100	100	100	100	100	100	100	100
60	100	100	96,8	100	100	100	100	100	100
90	100	100	96,8	100	100	100	100	100	100
120	100	100	96,8	100	100	100	100	100	100
150	100	100	96,8	100	100	96,8	100	100	100
180	100	100	96,8	100	100	96,8	100	100	100
210	100	100	96,8	96,8	100	93,7	100	100	100

Esses resultados corroboram os observados por Lamônica (2013) em minicepas clonais de *Toona ciliata* produzidas por miniestaquia, em sistema de canaletões, em que a autora obteve 100% de sobrevivência para os clones TC3 e TC9, e 95,2% para o TC15, após 10 coletas sucessivas (232 dias). Para a mesma espécie, Silva et al. (2012) e Souza et al. (2009), ao avaliarem a produtividade de minijardins multiclonais compostos por minicepas provenientes de sementes, conduzidos em canaletão e tubetes, obtiveram 100% de sobrevivência das minicepas para os dois sistemas, durante sete e três meses de manejo, respectivamente.

Ao avaliarem a influência da miniestaquia seriada na sobrevivência de minicepas de quatro clones de *Eucalyptus grandis* em jardim miniclinal, Wendling et al. (2003b) observaram, para todos os clones, sobrevivência de minicepas superior a 96% após sete coletas de miniestacas, em sete subcultivos de miniestaquia seriada.

Quanto ao número de brotações foi observada uma tendência de aumento no clone TC3 até a sexta coleta (180 dias) no SUB2, não havendo

padrão de variação nos outros dois cultivos. Além disso, a produção de brotações no SUB2 manteve-se mais elevada na maioria das coletas quando comparada ao SUB1 e cultivo de resgate do campo. Para os clones TC9 e TC15 não foi observada variação na produção de brotações entre os cultivos (Figura 4).

Quanto ao número de miniestacas, o clone TC3 apresentou diferença entre os tipos de cultivos, tendo este clone no SUB2, em média, 45,1 e 54,4% a mais de miniestacas produzidas, respectivamente, em relação ao SUB1 e cultivo de resgate do campo na sétima coleta (210 dias). Para o clone TC15 foi observada uma tendência de aumento no número de miniestacas advindas das minicepas do cultivo de resgate do campo (Figura 5), mas não houve diferença entre os cultivos.

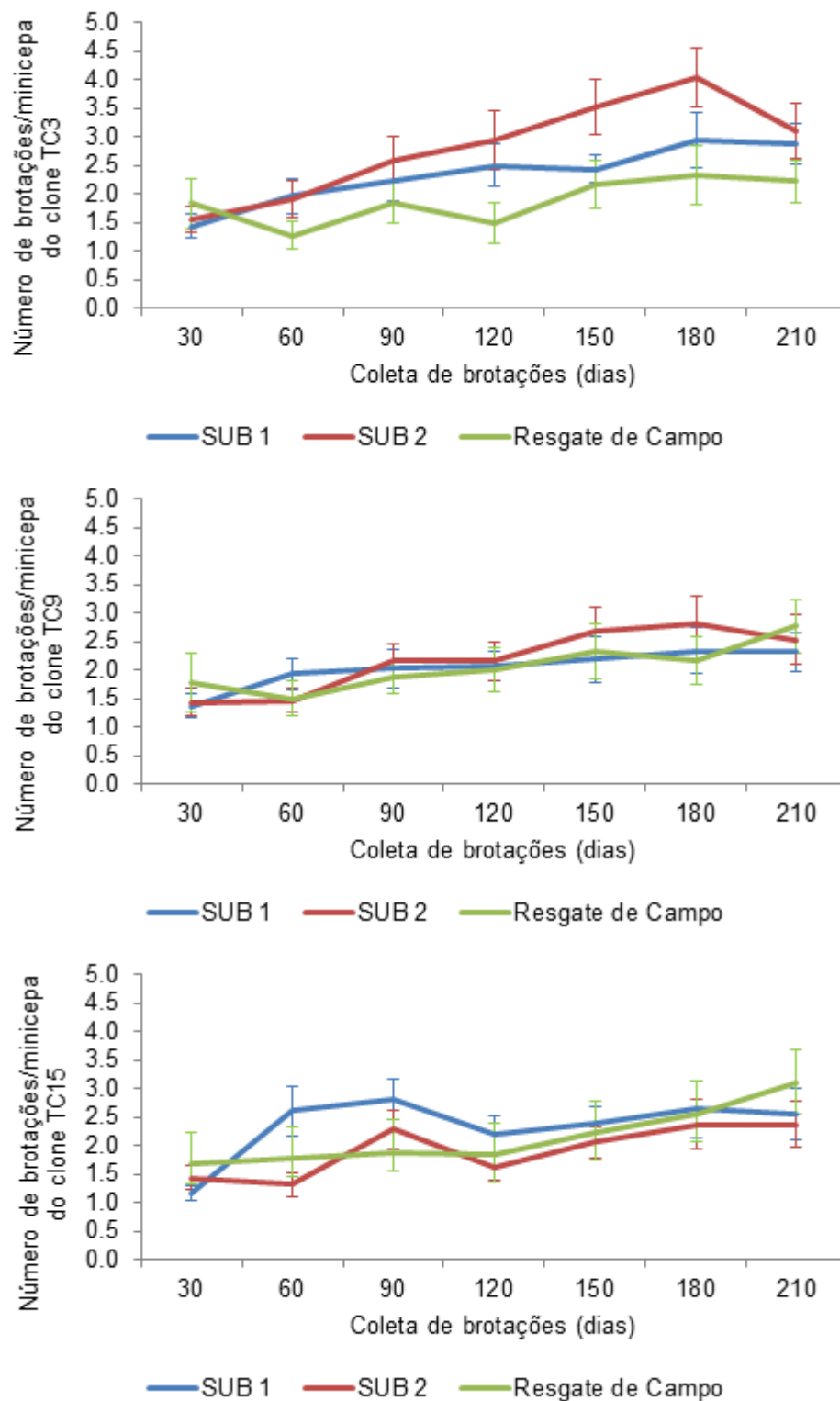


Figura 4: Número de brotações produzidas por minicepas de clones (TC3, TC9 e TC15) de *Toona ciliata* em subcultivos por miniestaquia seriada (SUB1 e SUB2) e cultivo de resgate do campo, em função das coletas de brotações. Barras representam o Intervalo de Confiança das médias a 95% de probabilidade.

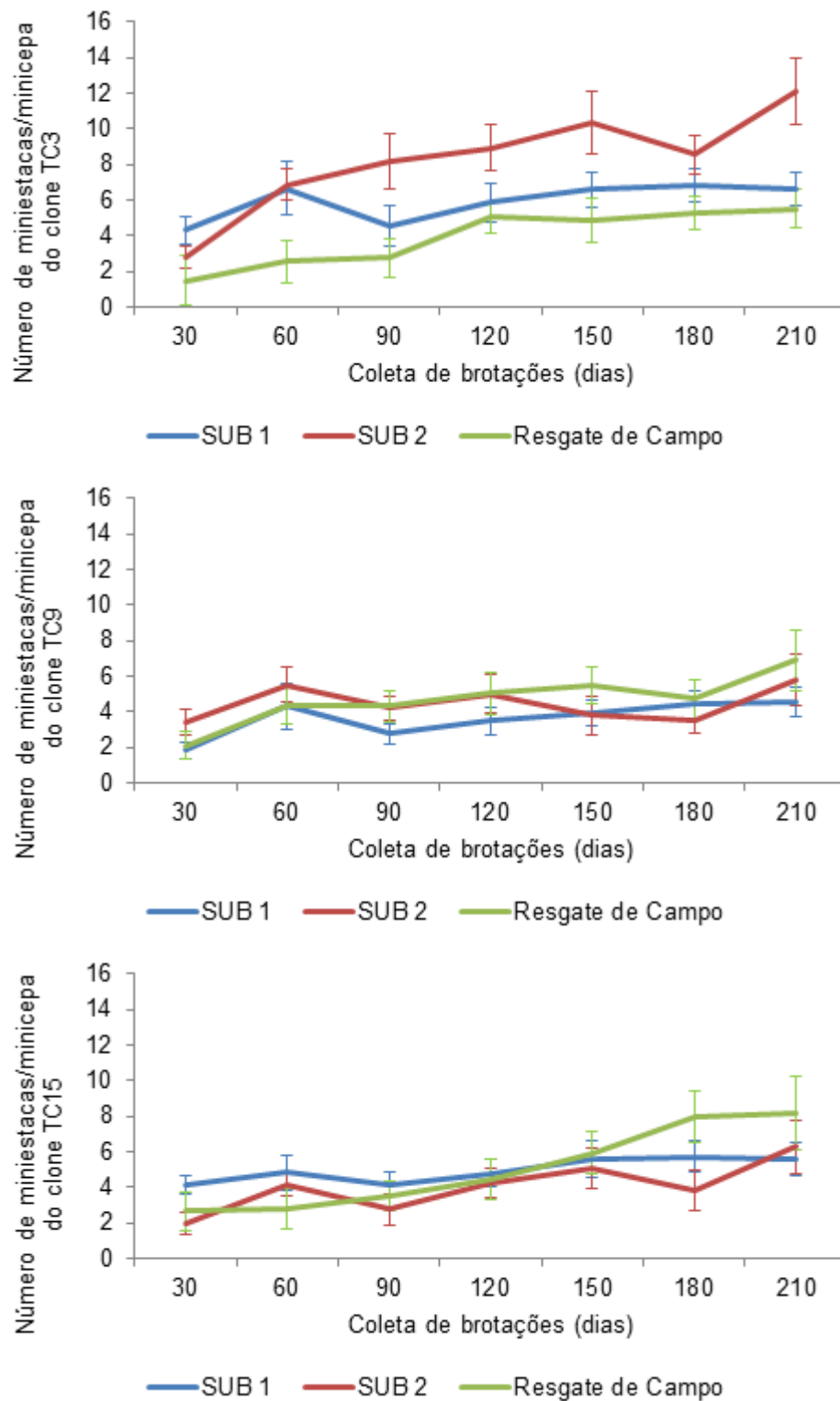


Figura 5: Número de miniestacas produzidas por minicepas de clones (TC3, TC9 e TC15) de *Toona ciliata* em subcultivos por miniestaqueia seriada (SUB1 e SUB2) e cultivo de campo, em função das coletas de brotações.

Barras representam o Intervalo de Confiança das médias a 95% de probabilidade.

O clone TC3 respondeu de forma positiva à miniestaquia seriada, após dois cultivos em série, com maior número de brotações e miniestacas produzidas no SUB2 em relação ao SUB1. Plantas mais juvenis tendem a apresentar maior vigor de crescimento e tendência ao crescimento ortotrópico, ou seja, maior crescimento vegetativo em altura, mantendo a dominância apical (Greenwood e Hutchison, 1993; Hartmann et al., 2011). Parker et al. (1998), observaram tendência ao crescimento ortotrópico em estacas de propágulos juvenis de *Pinus taeda*, quando comparados a propágulos maduros.

Nos clones TC9 e TC15 não houve efeito da miniestaquia seriada após dois subcultivos (Figura 5). Ressaltando uma possível diferença de resposta dos materiais genéticos à miniestaquia seriada, Wendling e Xavier (2005a) destacam que, em materiais que possuem boa habilidade de propagação vegetativa, quanto à produção de miniestacas, não se obtêm resultados positivos pela miniestaquia seriada. Hackett e Murray (1993) ressaltam que o rejuvenescimento ocorre em termos relativos e não absolutos, logo, algumas características relacionadas à maturação são mais facilmente alteradas que outras.

Wendling et al. (2003b), ao avaliarem o efeito da miniestaquia seriada na produtividade de minicepas de clones de *Eucalyptus grandis*, constataram que as minicepas dos subcultivos maiores apresentaram tendência de diminuição na produção de miniestacas para todos os clones estudados. Segundo os autores, a miniestaquia seriada não proporcionou diferença significativa para esta característica, nos materiais avaliados.

Da mesma forma, Titon et al. (2003), ao avaliarem a sobrevivência, o vigor e a produtividade de microcepas oriundas de mudas de quatro clones de *Eucalyptus grandis*, rejuvenescidas por micropropagação, mediante subcultivos *in vitro*, e de minicepas provenientes de plantas propagadas pelo método da estaquia convencional, observaram que a taxa de sobrevivência das microcepas e minicepas foi superior a 98% e a produção de microestacas/microcepa e de miniestacas/minicepa mostrou-se semelhante para três dos clones avaliados. Com isso, quanto ao efeito do rejuvenescimento *in vitro*, os autores concluíram que este não promoveu diferenças significativas na sobrevivência, na produção e no vigor das microcepas em relação às minicepas, atribuindo esses resultados, em parte, à diferença entre os materiais genéticos utilizados, bem como ao grau

de juvenilidade das microcepas e minicepas e às condições ambientais durante a propagação.

Por outro lado, ao utilizar a técnica de micropropagação seriada em material proveniente de semente e de árvore clonada de *Tectona grandis* com 35 anos de idade, Andrade (2010) observou que não houve diferença no número de brotos produzidos para o material oriundo de semente com o aumento dos subcultivos, porém para o clone, o aumento dos subcultivos proporcionou aumento significativo de sete brotos no primeiro subcultivo para doze no quinto subcultivo, evidenciando maior competência para a formação de brotações com subcultivos sucessivos.

Lamônica (2013), ao avaliar a produtividade dos clones TC3, TC9 e TC15 de *Toona ciliata*, não observou um padrão na produção de miniestacas pelas minicepas dos clones avaliados ao longo de dez coletas, apresentando o clone TC3, em média, por coleta, 5,19 miniestacas. Enquanto no presente estudo, para o clone TC3 a produção de miniestacas, ao longo de sete coletas, no SUB 2 foi superior aos demais tipos de cultivo, sendo produzidas, em média, por coleta, 8,25 miniestacas. Sugere-se que os cultivos em série tenham proporcionado um aumento de vigor deste clone, com maior número de miniestacas produzidas por minicepas.

Ao utilizarem mudas de cedro australiano, provenientes de sementes, em sistema de canaletão, Souza et al. (2014) observaram uma média de 2,6 miniestacas por minicepa em coletas com intervalos médios de 32 dias. Ferreira (2009) obteve uma produção de 1,18 miniestacas por minicepa conduzida em canaletão em intervalos de 15 dias, também utilizando mudas provenientes de sementes da mesma espécie. Apesar de a propagação sexuada originar material juvenil (Hackett, 1987), o número médio de miniestacas produzidas para todos os clones neste trabalho foi maior.

Os clones TC3 e TC9 produziram mais miniestacas por minicepa no SUB2 em comparação ao SUB1 e o clone TC3 também, em relação ao cultivo de resgate do campo. O clone TC15 apresentou mais miniestacas produzidas no SUB1 em comparação ao SUB2 (Figura 6), evidenciando comportamento diferente dos materiais genéticos em função dos tratamentos.

Considerando 32 minicepas por m², os clones TC3 e TC9 produziram, ao final de sete coletas de brotações (210 dias), 28,2 e 18,9% de miniestacas a mais

no SUB2, respectivamente, em relação ao SUB1. Quando comparado ao cultivo de resgate do campo, o SUB2 produziu, para o clone TC3, 52,3% a mais de miniestacas, sugerindo que os cultivos em série conferiram maior produtividade a esse material genético.

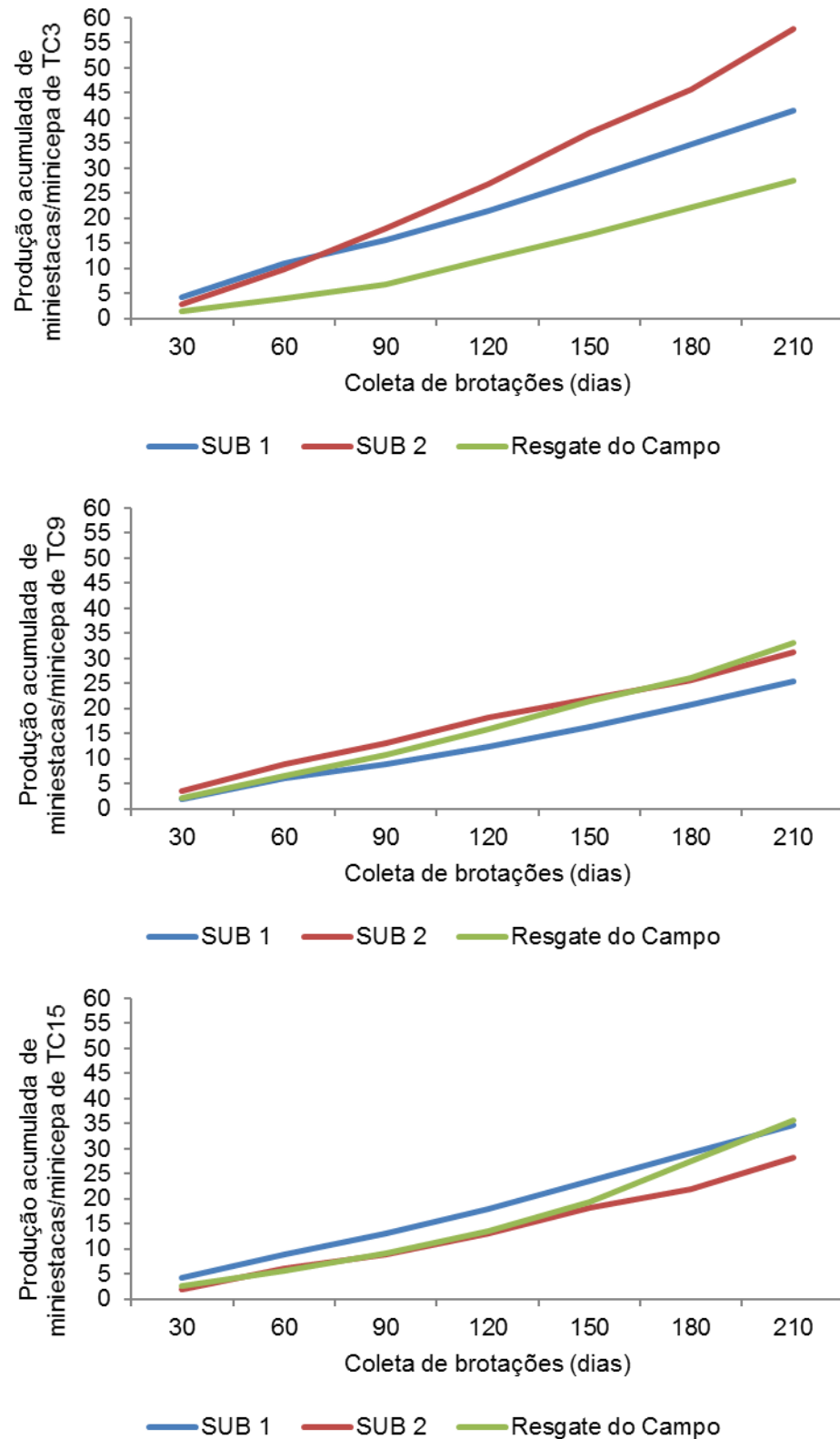


Figura 6: Produção acumulada de miniestacas por minicepa de clones (TC3, TC9 e TC15) de *Toona ciliata* em subcultivos seriados (SUB1 e SUB2) e cultivo de resgate do campo, em função das coletas de brotações.

Dentre os clones avaliados neste estudo, o TC3 foi o mais produtivo, com a produção acumulada, ao final de sete coletas (210 dias), de 1848 miniestacas por m² de canaletão no SUB2. Lamônica (2013) também teve como clone mais produtivo o clone TC3 e observou, após aproximadamente 240 dias de experimento, a produção acumulada de 1926 miniestacas. Em estudo realizado por Maluleque (2014), com objetivo de avaliar a produtividade de miniestacas de clones de *Toona ciliata*, cultivados em sistema de minijardim clonal em canaletão sobre leito de areia, o clone mais produtivo apresentou 1515,6 miniestacas por m² de canaletão, durante 270 dias (22 coletas). Enquanto Souza et al. (2014) obtiveram 550 miniestacas por m² de canaletão, durante 210 dias (6 coletas), para minicepas provenientes de sementes, demonstrando que apesar de ser um material no estágio mais juvenil, a seleção de materiais e o aperfeiçoamento da técnica poderão resultar em maior produtividade de minijardins.

5.2. Aspecto morfológico das brotações das minicepas

Não foi observada diferença significativa no número de folhas entre os tipos de cultivo, entretanto, a técnica da miniestaquia seriada resultou em minicepas com brotações de maior área foliar e número de folíolos por folha, resultando em maior massa seca (Tabela 3).

Tabela 3: Número de folhas (NF), número de folíolos por folha (NFL/F), área foliar por folha (AF/F) e massa seca (MSB) das brotações de minicepas de três clones de *Toona ciliata*, em função do tipo de cultivo

Tipo de cultivo	NF			
	Clone TC3	Clone TC9	Clone TC15	Média
SUB1	12,1	11,0	12,4	11,8 a
SUB2	12,7	10,5	9,4	10,9 a
Resgate do campo	6,7	9,7	11,3	9,2 a
Média	10,5 A	10,4 A	11,0 A	
CV (%)	14,79			
NFL/F				
SUB1	10,2	8,9	9,0	9,4 b
SUB2	12,3	10,9	9,3	10,8 a
Resgate do campo	10,2	7,7	8,5	8,8 b
Média	10,9 A	9,2 B	8,9 B	
CV (%)	13,23			
AF/F (cm ²)				
SUB1	64,1	61,5	85,3	70,3 b
SUB2	145,3	131,3	109,9	128,8 a
Resgate do campo	72,4	41,1	106,3	73,2 b
Média	93,9 A	77,9 A	100,5 A	
CV (%)	33,27			
MSB (g)				
SUB1	3,29	3,60	5,26	4,05 b
SUB2	8,11	7,64	4,97	6,91 a
Resgate do campo	2,14	1,92	3,98	2,68 b
Média	4,51 A	4,38 A	4,73 A	
CV (%)	9,81			

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

O número de folíolos por folha, a área foliar por folha e a massa seca das brotações no SUB2 foram significativamente maiores que no SUB1 e cultivo de resgate do campo, independente do clone avaliado (Tabela 3). Isto pode ser

devido ao fato de que propágulos mais juvenis sustentam maior produção de folhas e biomassa, pois em estágio juvenil de desenvolvimento é necessário maior crescimento vegetativo para produção de fotoassimilados, que posteriormente serão utilizados no desenvolvimento de frutos (Greenwood e Hutchison, 1993).

Xavier et al. (2009) discutem que propágulos vegetativos retêm os níveis específicos de juvenilidade ou maturidade quando são retirados da planta matriz, sendo assim apresentam a morfologia, assim como a fisiologia, semelhantes à parte da planta matriz do qual foram resgatados e que a juvenilidade pode ser revertida com o uso de propágulos revigorados. No entanto, no SUB2, as minicepas apresentaram maior número de folíolos por folha e área foliar por folha, em relação aos demais cultivos, indicando que dois subcultivos em série não promoveram redução das folhas das minicepas, que permaneceram com características de material adulto.

Altoé e Marinho (2012), ao avaliarem o número de folhas das mudas de goiabeira 'Paluma', aos 83 dias após a repicagem, não observaram diferença entre o primeiro e segundo subcultivo por miniestaquia seriada. Contudo, Andrade (2010), ao comparar material oriundo de semente e árvore clonal de *Tectona grandis* submetidos a subcultivos seriados, ambos micropropagados, observou maior número de folhas nos explantes, aos 30 dias de cultivo, obtidos de sementes em relação ao clone avaliado, devido à maior juvenilidade.

Na Tabela 4 estão apresentadas as correlações entre a produtividade, o número de brotações e de miniestacas, e o número de folhas, o número de folíolos, a área foliar, a área foliar por folha, o número de folíolos por folha e a massa seca iniciais das brotações das minicepas.

Tabela 4: Correlações de Pearson entre as variáveis, número de brotações (NB) e número de miniestacas (NM), produzidas em três ciclos de produção, e número de folhas (NF), número de folíolos (NFL), área foliar (AF), área foliar por folha (AF/F), número de folíolos por folha (NFL/F) e massa seca (MSB) iniciais das brotações das minicepas de *Toona ciliata*

Variáveis	NM	NF	NFL	AF	AF/F	NFL/F	MSB
NB	0,6567**	0,6599**	0,5582**	0,2622*	-0,0727	0,1080	0,2858*
NM	1	0,6551**	0,7701**	0,6340**	0,3635**	0,5376**	0,6248**

60 observações; *significativo pelo teste t a 5% de probabilidade.; **significativo pelo teste t a 1% de probabilidade.

As altas e positivas correlações entre o número de miniestacas e o número de folhas e folíolos, a área foliar e a massa seca de brotações indicam que o total de miniestacas produzidas por minicepas foi dependente das características morfológicas das brotações das minicepas. Entretanto, embora folhas maiores possam ser pouco favoráveis ao manejo do minijardim, foram favoráveis à produtividade.

5.3. Enraizamento e qualidade final de mudas

O percentual de enraizamento nos clones TC3 e TC9 foi maior no cultivo de resgate do campo do que no SUB1 por miniestaquia seriada, não diferindo, para estes clones, do SUB2. No clone TC15 não foi observada diferença significativa entre os tipos de cultivo (Tabela 5).

Tabela 5: Enraizamento de miniestacas de três clones de *Toona ciliata*, aos 30 dias após o estaqueamento, em função do tipo de cultivo

Tipo de cultivo	Enraizamento (%)			Média
	Clone TC3	Clone TC9	Clone TC15	
SUB1	57,4 b B	58,3 b B	83,3 a A	66,3
SUB2	68,5 ab A	69,4 ab A	63,9 a A	67,3
Resgate do campo	83,3 a A	83,3 a A	72,2 a A	79,6
Média	69,7	70,4	73,1	
CV (%)	17,5			

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

O percentual de enraizamento dos três clones no SUB1 não diferiu do SUB2, dessa forma, não houve efeito dos dois subcultivos seriados por miniestaquia no aumento do enraizamento. Esperava-se que o revigoramento do material proporcionasse maior potencial de enraizamento, característico de materiais juvenis (Fachinello et al., 2005, Xavier et al., 2009, Hartmann et al., 2011).

A utilização de subcultivos, a partir do plantio consecutivo de brotações pode favorecer o processo de indução radicial, conforme verificado por Wendling e Xavier (2005a), em clones de *Eucalyptus grandis*. Estes autores analisaram a eficiência da miniestaquia seriada utilizando sete subcultivos consecutivos de miniestaquia, concluindo pelo efeito positivo dessa técnica sobre o percentual de enraizamento, com incremento de mais de 20% nos maiores subcultivos em comparação aos menores principalmente no clone que originalmente apresentava menor capacidade para esta característica. Dessa forma, o maior número de subcultivos poderá resultar em efeito positivo no enraizamento dos clones estudados.

O percentual de enraizamento dos clones avaliados, aos 30 dias após o estaqueamento, foi semelhante ao observado por Lamônica (2013) para os mesmos clones, sugerindo que não houve efeito de revigoramento nos dois subcultivos seriados que resultasse em maior percentual de enraizamento.

Em trabalhos realizados com minicepas de *Toona ciliata* provenientes de sementes, foram observados altos percentuais de enraizamento (Souza et al. 2009; Ferreira et al. 2012a; Silva et al. 2012). Souza et al. (2009) obtiveram 100% de enraizamento de miniestacas após testar doses de AIB (0; 1500; 3000; 4900 e 4500 mg L⁻¹) em todas as coletas e doses, após permanência de 40 dias na câmara de nebulização, concluindo que não é necessária a aplicação de AIB para o enraizamento da espécie. Ferreira et al. (2012a), avaliando o enraizamento de miniestacas apicais, intermediárias e basais observaram 94,7; 96,3 e 96,6%, respectivamente. Silva et al. (2012) obtiveram 100% de enraizamento de miniestacas que foram coletadas em minicepas multiclonais conduzidas em canaletão e tubetes, durante 6 e 4 coletas sucessivas, respectivamente. Isto se deve ao fato de que materiais advindos de sementes são mais juvenis comparativamente a materiais propagados de matrizes adultas.

Ao avaliar o enraizamento de microestacas de árvore clonal de 35 anos de *Tectona grandis*, multiplicadas por micropropagação seriada, 28 dias após o estaqueamento em viveiro, com uso de 500 mg L⁻¹ de AIB, Andrade (2010) observou que no quinto subcultivo o percentual de enraizamento era de 52% e no sétimo subcultivo de 70%. Concluiu-se que com sete subcultivos é possível ter o rejuvenescimento de matrizes adultas de *Tectona grandis*.

Titon (2001), ao avaliar o enraizamento de clones de *Eucalyptus grandis* comparando as técnicas de miniestaquia (sem rejuvenescimento) e microestaquia (com rejuvenescimento *in vitro*), verificou que para clones de fácil enraizamento, não foi observado efeito do uso da microestaquia em relação ao da miniestaquia, o número de subcultivos variou de 7 a 13 entre os clones. Já Oliveira (2011), avaliando o enraizamento de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*, oriundos de material micropropagado rejuvenescido e de material obtido por miniestaquia, concluiu que a micropropagação seriada não promoveu rejuvenescimento significativo das microestacas em relação às miniestacas, após 25 subcultivos. Giovannelli e Giannini (2000) comentam que, o efeito do rejuvenescimento *in vitro* na multiplicação e no enraizamento de algumas espécies pode não ser mantido em longo prazo, sendo desconhecida a estabilidade dos traços juvenis.

Não foi observada diferença entre os tipos de cultivos nos clones avaliados para o número de raiz de primeira ordem (NRPO) e de segunda ordem (NRSO), comprimento de raízes de primeira ordem (CTRPO), comprimento total de raízes (CTR) e comprimento total de raízes até 2 mm de diâmetro (CTR (Ø 0 - 2mm)). Apenas foi observado um pequeno aumento no diâmetro das raízes finas das miniestacas dos clones TC3 e TC15, aos 30 dias após o estaqueamento, do SUB2 em relação ao SUB1 e em média, o TC15 apresentou maior número de raízes de segunda ordem que os demais clones avaliados (Tabela 6).

Tabela 6: Número de raiz de primeira ordem (NRPO) e de segunda ordem (NRSO), comprimento de raízes de primeira ordem (CTRPO), comprimento total de raízes (CTR), comprimento total de raízes até 2 mm de diâmetro (CTR (Ø 0 - 2mm)) e diâmetro médio de raízes (DMR) de miniestacas de três clones de *Toona ciliata*, aos 30 dias após o estaqueamento, em função do tipo de cultivo

Tipo de Cultivo	NRPO				NRSO			
	Clone TC3	Clone TC9	Clone TC15	Média	Clone TC3	Clone TC9	Clone TC15	Média
SUB1	4,9	5,1	5,5	5,2 a	11,0	5,9	10,9	9,3 a
SUB2	2,7	5,4	4,3	4,2 a	3,5	3,7	9,9	5,7 a
Resgate do campo	4,4	5,1	4,7	4,8 a	5,4	7,3	30,2	14,3 a
Média	4,0 A	5,2 A	4,9 A		6,6 B	5,7 B	16,9 A	
CV (%)		23,72				67,26		
	CRPO (cm)				CTR (cm)			
SUB1	26,2	15,6	26,8	22,9 a	25,6	18,2	31,9	25,2 a
SUB2	7,6	14,0	16,7	12,8 a	9,8	18,2	22,2	16,7 a
Resgate do campo	20,9	14,8	32,1	22,6 a	22,7	18,5	59,7	33,6 a
Média	18,3 A	14,8 A	25,2 A		19,4 A	18,3 A	37,9 A	
CV (%)		36,56				36,03		
	CTR (Ø 0 - 2mm) (cm)				DMR (mm)			
SUB1	25,5	17,9	31,5	25,0 a	0,95 b B	1,27 a A	1,03 b B	1,08
SUB2	9,4	17,3	21,1	15,9 a	1,31 a A	1,25 a A	1,28 a A	1,29
Resgate do campo	22,5	18,1	58,8	33,1 a	1,14 ab A	1,18 a A	1,11 ab A	1,14
Média	19,1 A	17,8 A	37,1 A		1,14	1,23	1,14	
CV (%)		36,48				16,91		

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

Greenwood e Hutchison (1993) ressaltam que, além do aumento dos percentuais de enraizamento com o aumento de juvenilidade dos propágulos, pode ocorrer maior vigor radicular, resultando, em maior número de raízes, o que não foi observado neste estudo em função dos cultivos.

Os resultados de número e comprimento de raízes de primeira ordem foram semelhantes aos obtidos por Lamônica (2013), para os mesmos clones de cedro australiano. Quando comparado aos resultados obtidos por Ferreira et al. (2012a) e Silva et al. (2012), com a mesma espécie, utilizando miniestacas provenientes de minicepas obtidas por sementes, observa-se que os clones deste estudo apresentaram valores inferiores de número de raízes de primeira ordem e comprimento total de raízes. Ferreira et al. (2012a) observaram que as médias de comprimento de raízes para miniestacas apicais, intermediárias e basais, aos 40 dias após o estaqueamento, variaram entre 51,0 e 78,5 cm. Enquanto Silva et al. (2012) avaliando miniestacas provenientes de minicepas conduzidas em sistema de canaletão e tubetes, obtiveram, respectivamente, comprimento de raízes de 65,8 e 85,4 cm, e número de raízes de 14,7 e 20,3, aos 30 dias após o estaqueamento. Diante disto, a miniestaquia seriada em dois subcultivos apenas não promoveu efeito de revigoração na qualidade do enraizamento de miniestacas obtidas de minicepas de materiais oriundos de matrizes adultas.

Ao comparar microestacas provenientes de brotações coletadas em plantas rejuvenescidas por micropropagação e miniestacas oriundas de brotações coletadas de miniestacas enraizadas originadas de mudas propagadas pelo processo de estaquia convencional de *Eucalyptus grandis*, Titon et al. (2002) obtiveram médias dos clones variando entre 3,2 e 4,2 raízes de primeira ordem/estaca, na microestaquia (com rejuvenescimento *in vitro*), e entre 3,0 e 3,5, na miniestaquia (sem rejuvenescimento). Os autores atribuem esses resultados à maior habilidade de enraizamento das microestacas em relação às miniestacas, devido ao efeito do rejuvenescimento sobre esta característica, principalmente em clones de difícil enraizamento, acelerando o processo de produção de mudas em viveiro.

Wendling e Xavier (2005a), ao avaliarem a influência dos subcultivos de miniestaquia seriada no vigor radicular de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*, 25 dias após o estaqueamento, observaram, de forma geral, uma tendência de aumento no número de raízes por miniestaca com a elevação no

número de subcultivos, principalmente nas avaliações iniciais, indicando um maior vigor inicial. Entretanto, no clone CC12 foi verificada diminuição no vigor radicular com o aumento do número de subcultivos, denotando uma resposta negativa deste material aos subcultivos de miniestaquia seriada. De acordo com os autores, este fato pode estar relacionado a uma linha de máxima juvenildade, em que, a partir desta, qualquer método ou técnica de rejuvenescimento não resultaria mais em respostas positivas, ocasionando, em algumas situações, a redução do vigor geral dos propágulos.

Freitas et al. (2013) não observaram efeito da técnica de miniestaquia seriada, depois de dois subcultivos, na sobrevivência, no enraizamento, no número de raízes e no comprimento total de raízes de miniestacas de goiabeiras 'Paluma', 'Pedro Sato' e 'Cortibel 6', aos 62 dias após o estaqueamento.

A sobrevivência das mudas dos clones TC3 e TC15 não variou em função dos tipos de cultivo. As mudas do clone TC9 produzidas no SUB2 apresentaram menor percentual de sobrevivência que aquelas obtidas de minicepas do resgate no campo (Tabela 7).

Tabela 7: Sobrevivência, altura e diâmetro a altura do colo (DAC) de mudas de três clones de *Toona ciliata*, produzidas por miniestaquia, aos 105 dias após o estaqueamento, em função do tipo de cultivo

Tipo de cultivo	Sobrevivência (%)			Média
	Clone TC3	Clone TC9	Clone TC15	
SUB1	50,0 a B	52,8 ab B	91,7 a A	64,8
SUB2	63,9 a A	30,5 b B	85,0 a A	59,8
Resgate do campo	80,5 a A	69,4 a A	80,5 a A	76,8
Média	64,8	50,9	85,7	
CV (%)	13,56			
Altura (cm)				
SUB1	6,4	6,9	9,5	7,6 a
SUB2	5,7	6,3	6,7	6,2 b
Resgate do campo	6,3	5,9	7,2	6,4 ab
Média	6,1 B	6,4 B	7,8 A	
CV (%)	17,68			
DAC (mm)				
SUB1	4,80 a A	4,67 b A	4,80 b A	4,76
SUB2	4,39 a B	6,16 a A	4,84 b B	5,13
Resgate do campo	5,07 a A	5,04 b A	5,91 a A	5,34
Média	4,75	5,29	5,18	
CV (%)	10,67			

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

Os resultados obtidos por Lamônica (2013) para a sobrevivência de mudas dos clones TC3, TC9 e TC15 de cedro australiano, aos 105 dias após o estaqueamento, foram após dez coletas, em média, respectivamente, 87,3; 75,6 e 92,0%, sendo superiores aos observados neste estudo. Isso evidencia que o número de subcultivos por miniestaquia seriada não foi suficiente para causar efeito na sobrevivência de mudas.

Ferreira et al. (2012a) e Silva (2010) encontraram alto percentual de sobrevivência de mudas produzidas a partir de miniestacas obtidas de minijardim de origem seminal. Ferreira et al. (2012a) obtiveram mais de 90% de sobrevivência, aos 110 dias após o estaqueamento, de miniestacas apicais, intermediárias e basais. Enquanto Silva (2010) observou, respectivamente, 96 e 97% de sobrevivência de mudas provenientes de minijardins conduzidos em canaletões e tubetes, aos 105 dias após estaqueamento. Materiais de *Toona*

ciliata de origem seminal possuem maior juvenildade que materiais obtidos por resgate de brotações de cepas adultas, mesmo após dois cultivos seriados por miniestaquia.

As mudas provenientes do SUB1 apresentaram maior crescimento em altura quando comparadas às mudas no SUB2. As mudas do TC15 apresentaram maior crescimento em altura, enquanto o crescimento em diâmetro foi maior quando as miniestacas foram provenientes do resgate do campo.

Apesar do baixo percentual de sobrevivência, as mudas do TC9, provenientes do SUB2, apresentaram maior crescimento em diâmetro, destacando-se também com relação aos demais materiais genéticos.

As médias de altura das mudas, aos 105 dias após o estaqueamento, foram similares às observadas por Lamônica (2013), para os mesmos clones. Enquanto em mudas oriundas de miniestacas obtidas de minicepas de origem seminal, Silva (2010), aos 105 dias após o estaqueamento, obteve mudas com, em média, 20 cm de altura, e Ferreira et al. (2012a) observaram, aos 110 dias após o estaqueamento, 15 cm de altura das mudas, ambos os valores superiores às médias atingidas neste estudo.

O diâmetro à altura do colo (DAC) das mudas também foi semelhante ao observado por Lamônica (2013). As médias obtidas neste estudo também foram similares às observadas por Silva (2010) e Ferreira et al. (2012a) para mudas de *Toona ciliata* produzidas por miniestaquia, com material proveniente de sementes. As mudas de todos os tratamentos apresentaram mais de 4 mm de DAC, o que, de acordo com Vilela e Stehling (2013), estaria dentro do padrão de mudas de cedro australiano para o plantio.

Wendling e Xavier (2005), ao avaliarem a sobrevivência de mudas clonais de *Eucalyptus grandis*, aos 50 dias, rejuvenescidas pela técnica de miniestaquia seriada, observaram efeito positivo com o aumento dos subcultivos, para esta característica, nos clones avaliados. Em um dos clones a elevação no percentual de sobrevivência foi de, aproximadamente, 15% no sétimo subcultivo em relação ao primeiro. Os autores discutem que em clones com menor vigor o efeito do rejuvenescimento tende a ser mais pronunciado e evidenciam a aplicabilidade da técnica de miniestaquia seriada para clones e espécies com maior dificuldade de enraizamento na fase adulta. De forma análoga, foi observada no presente estudo diferença nas respostas dos clones avaliados à miniestaquia seriada, tendo o

clone TC9 apresentou sobrevivência das mudas inferior em relação aos demais no SUB2, além de menor crescimento em altura quando comparado ao SUB1. Já o clone TC15 apresentou maior percentual de enraizamento de miniestacas e maior sobrevivência das mudas com relação aos demais clones no SUB1.

Titon (2001), avaliando o vigor das mudas advindas de miniestacas e microestacas de *Eucalyptus grandis*, obtidas pelas técnicas de miniestaquia (sem rejuvenescimento) e microestaquia (com rejuvenescimento *in vitro*), respectivamente, observou que, em média, para os clones estudados, o percentual de sobrevivência, aos 50 dias, foi superior a 84,4% na miniestaquia e 93,2% na microestaquia, sobretudo nos clones que apresentavam dificuldade no enraizamento. Da mesma forma, a altura e o diâmetro do coleto das mudas produzidas a partir de microestacas apresentaram valores iguais ou superiores aos das mudas produzidas por miniestaquia, principalmente com relação aos clones menos juvenis, o rejuvenescimento promoveu o maior vigor das mudas.

A área foliar das mudas clonais de TC9 foi afetada pelos cultivos sucessivos, havendo redução da mesma no SUB2. As mudas do TC15 apresentaram maior massa seca da parte aérea (MSPA), como resultado do maior crescimento em altura, mesmo resultado observado para as mudas produzidas a partir do SUB1 (Tabela 8).

Tabela 8: Área foliar e massa seca de parte aérea (MSPA) de mudas de três clones de *Toona ciliata*, produzidas por miniestaquia, aos 105 dias após o estaqueamento, em função do tipo de cultivo

Tipo de cultivo	Área foliar			Média
	Clone TC3	Clone TC9	Clone TC15	
SUB1	193,6 a A	204,5 a A	247,7 a A	215,3
SUB2	171,8 a A	117,1 b B	152,1 a A	147,0
Resgate do campo	176,5 a A	123,6 a A	146,6 a A	148,9
Média	180,6	148,4	182,1	
CV (%)	8,54			
MSPA				
SUB1	1,25	1,55	2,02	1,60 a
SUB2	1,18	1,07	1,30	1,18 b
Resgate do campo	1,28	1,06	1,40	1,24 b
Média	1,24 B	1,23 B	1,57 A	
CV (%)	16,08			

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

As médias de área foliar e de massa seca de parte aérea (MSPA) obtidas por Lamônica (2013) para mudas dos mesmos clones, aos 105 dias após o estaqueamento, foram maiores que os valores observados neste estudo. Silva (2010) observou que a MSPA das mudas de cedro, provenientes de minijardim de origem seminal, variava entre 2,11 e 3,20 g, aos 105 dias após o estaqueamento, valores também superiores aos observados nos clones avaliados.

Wendling e Xavier (2005) verificaram que a miniestaquia seriada em sete subcultivos proporcionou maior matéria seca da parte aérea das mudas clonais de *Eucalyptus grandis*, principalmente nos clones com menor juvenilidade, demonstrando o efeito da miniestaquia seriada no vigor das mudas produzidas. Entretanto, no presente trabalho foi realizado apenas dois subcultivos, logo se sugere que maior número de subcultivos poderá ocasionar efeito de revigoramento de mudas de cedro australiano e o comportamento descrito na literatura.

Altoé e Marinho (2012) avaliaram o crescimento de mudas de goiabeira 'Paluma' provenientes de dois subcultivos por miniestaquia seriada, e observaram

que, aos 138 dias após o estaqueamento, as mudas de 'Paluma' do primeiro subcultivo apresentaram maior crescimento em altura, em relação às mudas do segundo subcultivo. Contudo, os autores não verificaram diferença entre as mudas provenientes de miniestacas do primeiro e segundo subcultivos com relação à área foliar, ao número de folhas, à massa de matéria seca da parte aérea e do sistema radicular.

Quanto à qualidade do sistema radicular, observa-se que as mudas do clone TC9, provenientes do SUB2, apresentaram menor número e comprimento de raízes que nos demais cultivos, embora não tenha apresentado diferença na massa seca de raízes (Tabela 9).

Tabela 9: Número de raízes de primeira ordem (NRPO), comprimento total de raízes de primeira ordem (CTRPO), comprimento total de raízes (CTR), massa seca do sistema radicular (MSSR) e índice de qualidade de Dickson (IQD) de mudas de três clones de *Toona ciliata*, produzidas por miniestaquia, aos 105 dias após o estaqueamento, em função do tipo de cultivo

Tipo de cultivo	NRPO			Média
	Clone TC3	Clone TC9	Clone TC15	
SUB1	3,4 a B	7,3 a A	8,1 a A	6,4
SUB2	3,8 a AB	2,7 b B	5,2 a A	3,9
Resgate do campo	5,5 a A	7,7 a A	5,8 a A	6,4
Média	4,3	5,9	6,4	
CV (%)	14,93			
CTRPO (cm)				
SUB1	43,6 a B	79,3 a A	96,5 a A	73,1
SUB2	49,9 a A	36,4 b B	70,6 a A	52,3
Resgate do campo	60,0 a A	75,0 a A	69,1 a A	68,0
Média	51,2	63,6	78,7	
CV (%)	9,96			
CTR (cm)				
SUB1	816,7 a A	985,3 a A	1373,1 a A	1058,4
SUB2	809,5 a A	693,1 b B	1012,3 a A	838,3
Resgate do campo	836,7 a A	559,8 ab A	770,5 a A	722,3
Média	820,9	746,1	1052,0	
CV (%)	7,91			
MSSR (g)				
SUB1	0,38 a B	0,51 a B	0,79 a A	0,56
SUB2	0,48 a A	0,41 a A	0,56 ab A	0,48
Resgate do campo	0,49 a A	0,31 a A	0,43 b A	0,41
Média	0,45	0,41	0,59	
CV (%)	22,35			
IQD				
SUB1	0,34 a B	0,46 a AB	0,61 a A	0,47
SUB2	0,46 a A	0,42 ab A	0,51 ab A	0,46
Resgate do campo	0,46 a A	0,29 b A	0,39 b A	0,38
Média	0,41	0,39	0,51	
CV (%)	21,34			

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

Neste trabalho, foram observadas médias de NRPO inferiores às encontradas por Lamônica (2013), que para os mesmos clones de cedro australiano, obteve a média de dez coletas de, respectivamente, 9,3; 8,5 e 9,1 raízes de primeira ordem para estacas enraizadas dos clones TC3, TC9 e TC15. Este comportamento indica a importância de técnicas que ajudem a recuperar o vigor tanto das miniestacas obtidas de minicepas após 13 meses de exploração, quanto das provenientes de brotações mais velhas em campo, como as de 2 anos

utilizadas nesse estudo. Da mesma forma, Silva (2010) e Ferreira et al. (2012a) observaram valores maiores de raízes de primeira ordem do que os obtidos neste estudo para a mesma espécie. Silva (2010) obteve valores médios entre 15,96 e 23,89 e Ferreira et al. (2012a), valores entre 11,08 e 14,74, ambos avaliando mudas provenientes de miniestacas produzidas a partir de minicepas de origem seminal.

O clone TC9 apresentou maior número e comprimento de raízes de primeira ordem e maior comprimento total de raízes no SUB1 comparado ao SUB2, demonstrando que os cultivos seriados afetaram de forma negativa a qualidade de sistema radicular. Não sendo observadas diferenças para os clones TC3 e TC15 entre os tipos de cultivo (Tabela 9).

Apenas as mudas do clone TC15 apresentam diferença de massa seca de sistema radicular (MSSR) entre os tipos de cultivo, sendo observada maior MSSR no SUB1 em comparação ao cultivo de segundo resgate no campo. Wendling e Xavier (2005a) observaram maior peso da matéria seca da parte radicular das mudas clonais de *Eucalyptus grandis*, aos 50 dias de idade, submetidas a sete subcultivos por miniestaquia seriada, principalmente nos clones CC10 e CC15 que, de acordo com os autores, eram os materiais menos juvenis, por isso responderam de forma mais acentuada à técnica de rejuvenescimento, para esta variável.

Apesar de os valores obtidos para sobrevivência, área foliar, número e comprimento de raízes de primeira ordem nas mudas do clone TC9 provenientes do resgate do campo serem significativamente maiores que das mudas oriundas do SUB2, não houve diferença no índice de qualidade de Dickson (IQD) das mudas de TC9 produzidas no SUB2 em relação aos demais cultivos. As mudas do clone TC15 apresentaram maior massa seca de parte aérea e sistema radicular no SUB1 do que no cultivo de resgate do campo, que contribuiu para maior IQD, e quando comparado aos demais clones, ainda no SUB1, as mudas do clone TC15 exibiram maior IQD que as do clone TC3 (Tabela 9). Isso pode resultar em maior desenvolvimento inicial das mudas do clone TC15, produzidas no SUB1, quando levadas a campo.

Segundo Fonseca et al. (2002), o IDQ é um bom indicador da qualidade das mudas, pois pondera os resultados de vários parâmetros importantes para avaliação da qualidade. Além disso, no seu cálculo são considerados a robustez e

o equilíbrio da distribuição da biomassa na muda. Gomes e Paiva (2011) afirmam que quanto maior o índice, melhor qualidade terá a muda avaliada. Todavia, dois subcultivos em série não foram suficientes para causar efeito na qualidade das mudas para serem levadas a campo, pois não foram observadas diferenças entre o SUB1 e SUB2 para todos os clones avaliados.

5.4. Anatomia da base das miniestacas

Através da análise por microscopia óptica de cortes transversais da região de transição entre o caule e a raiz (colo), localizado na base das miniestacas dos clones TC9 e TC15 nos diferentes tipos de cultivo (SUB1, SUB2 e cultivo de resgate do campo), é possível observar no cilindro vascular, o floema organizado em feixes, e uma periderme não contínua. Diante disso, sugere-se que ambos os clones estão em estágio de transição de crescimento primário para secundário. Também foi observada, em ambos os clones, a presença de amido no citoplasma das células do cilindro vascular (Figura 7).

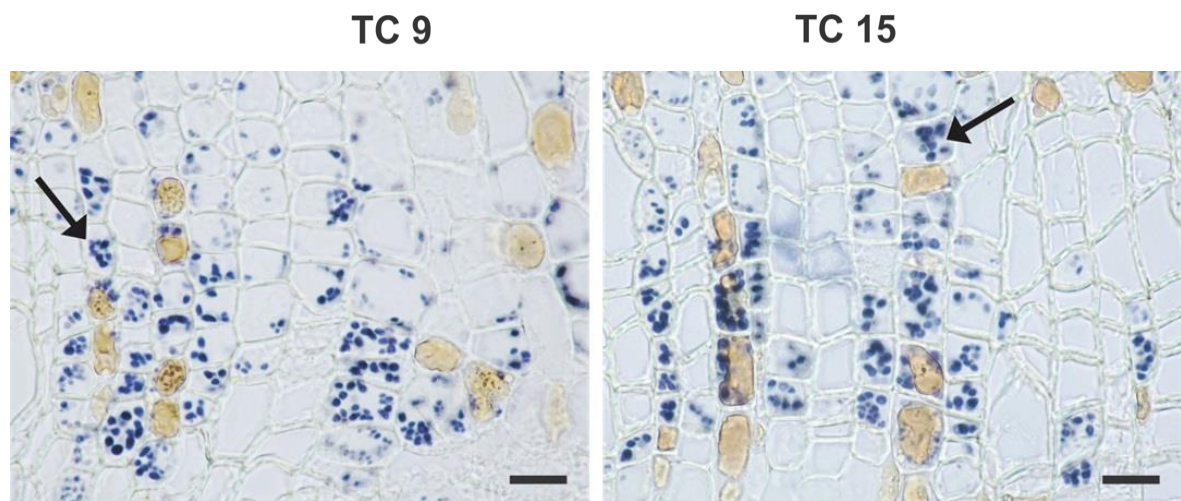


Figura 7: Teste histoquímico com reagente Lugol em cortes transversais da base de miniestacas dos clones TC9 e TC15 de *Toona ciliata*. Setas= grãos de amido nas células do cilindro vascular. Barra: 20 μ m.

Na Figura 8 (A e B) é possível visualizar a formação da periderme, ao observarem-se as três primeiras camadas celulares. O córtex é formado de células parenquimáticas isodiamétricas, com paredes delgadas e grande parte das células apresenta conteúdo denso acumulado no citoplasma. Em ambos os clones o córtex possui aspecto desorganizado, as células parenquimáticas apresentam parede celular com aspecto frouxo e algumas células lisadas, conferindo espaços intercelulares vazios (Figura 8 A).

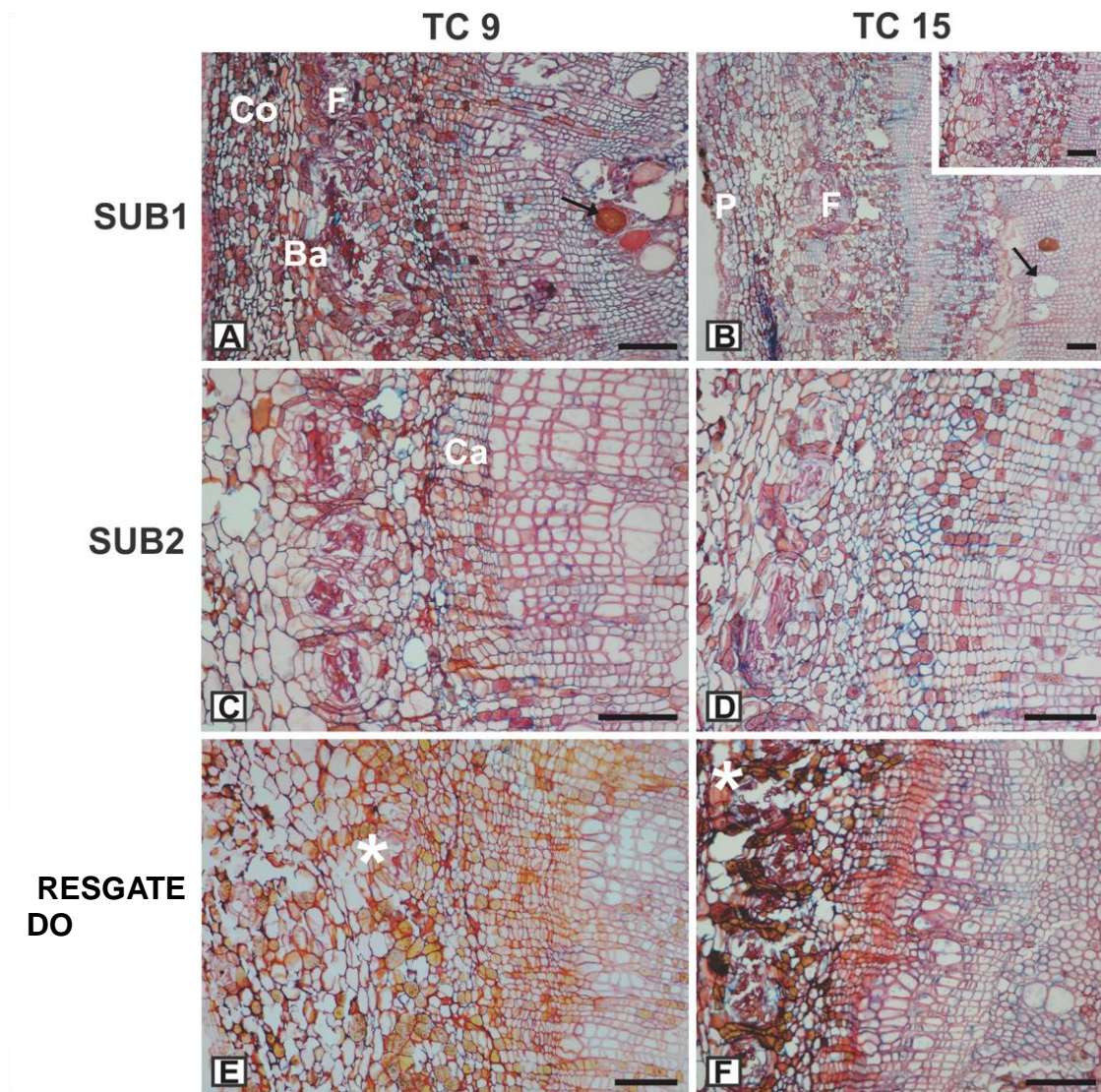


Figura 8: Vista geral de secções transversais da base das miniestacas, aos 30 dias após o estaqueamento, dos clones TC9 e TC15 de *Toona ciliata* em diferentes tipos de cultivo (SUB1, SUB2 e cultivo de campo). Co= córtex; Ba= bainha de células não diferenciadas; F= floema; P = periderme; Ca= câmbio

vascular; Setas= elementos de vaso; *células não diferenciadas ao redor do floema. Barras: 100 µm.

Nos clones TC9 e TC15, nos SUB1 e SUB2, foi notada ao redor do floema a presença de uma bainha constituída de células não diferenciadas (Figura 8A-D). Mas, não foi observada a mesma massa de células na bainha nos clones TC9 e TC15 do cultivo de resgate do campo (Figura 8E e F). Embora ambos os clones dos diferentes cultivos apresentem essa formação de bainha associada ao floema, os tecidos ainda não atingiram a maturidade, não é possível afirmar se essa bainha constitui impedimento ou não ao desenvolvimento das raízes. No entanto, no clone TC9 observa-se maior número e comprimento de raízes de primeira ordem no cultivo de resgate do campo em comparação ao SUB2, o que, provavelmente proporcionou também maior sobrevivência das mudas.

Mayer et al. (2006) demonstraram que a baixa capacidade de enraizamento (1,7%) de estacas de *Vitis rotundifolia* cv. Topsail, aos 77 dias após o estaqueamento, poderia estar relacionada com barreira anatômica formada pela disposição das fibras no floema secundário e pela permanência das fibras do floema primário. Além disso, foi observada a presença de amido nas células dos raios, não sendo este, de acordo com os autores, um fator que justificasse a baixa capacidade de enraizamento de 'Topsail'. O amido é apontado como maior fonte de carboidratos requeridos ao processo de indução radicial, já que a taxa de fotossíntese nas estacas permanece reduzida (Wiesman e Lavee, 1995). Oliveira e Ribeiro (2013) observaram maior quantidade de amido em estacas de *Euplassa inaequalis* coletadas no fim da época seca, coincidindo com a época de maior enraizamento, sobrevivência e formação de calos na espécie.

Ferriani et al. (2008) observaram, em estacas de matrizes adultas de *Piptocarpha angustifolia*, em diferentes épocas, aos 70 dias após o enraizamento, que todas apresentavam crescimento secundário, no entanto, mantiveram-se as calotas de fibras do floema primário e, no floema secundário, as camadas com células parenquimáticas e os elementos de tubo crivado intercalados por camadas de fibras. Os autores não relacionam a presença de fibras ao impedimento à iniciação radicial.

A faixa cambial localizada entre o floema e o xilema secundário apresenta entre 5 a 10 camadas de células (Figura 8C). O xilema secundário apresenta elementos de vaso localizados espaçadamente entre as fibras ao longo do cilindro vascular ou dispostos em cachos próximos à medula (Figura 8A e B).

Moraes et al. (2014) relatam que miniestacas de *Toona ciliata* oriundas de diferentes tipos de propágulos (caulinar apical, caulinar intermediária, foliar com cruzeta, miniestaca foliar), aos 20 dias após o estaqueamento, apresentam acima de 96% de enraizamento. No presente estudo, as bases foram coletadas de miniestacas já enraizadas, aos 30 dias após o estaqueamento, logo ocorre o enraizamento antes da formação de um possível impedimento que seria a bainha de células em diferenciação observada, no entanto, seria necessária observação do material em momento posterior aos 30 dias, para que se possa afirmar se essa bainha resultará em impedimento mecânico ou não no desenvolvimento de um sistema radicular de qualidade.

Bortolini et al. (2008), analisando as secções da base das estacas de *Tibouchina sellowiana*, aos 65 dias após o estaqueamento, coletadas nas quatro estações do ano, observaram que o caule dessa espécie se encontrava em crescimento secundário com periderme instalada e fragmentos do córtex primário e floema secundário sendo eliminados, não sendo detectada nenhuma possível barreira anatômica que pudesse, de acordo com os autores, dificultar o enraizamento.

Não foi observada a presença de anel esclerenquimático perivascular nos clones avaliados em todos os tipos de cultivo. Fachinello et al. (2005) comentam que estacas com tecidos mais tenros têm mais facilidade de enraizar, não havendo a presença de um anel de esclerênquima altamente lignificado que dificultaria a emissão dos primórdios radiculares. Este não é o único fator que poderia impedir o enraizamento, existem ainda barreiras químicas, como a presença de inibidores ou ausência de cofatores do enraizamento (Hartmann et al., 2011).

Bastos (2005), avaliando a anatomia de estacas herbáceas, semilenhosas e lenhosas de caramboleira, aos 70 dias após o estaqueamento, observou a presença de fibras do floema primário com células mais espessas, situadas abaixo do parênquima cortical nas estacas lenhosas e semilenhosas. Já nas estacas lenhosas foi observada a formação de uma bainha de fibras do floema ao

redor dos feixes vasculares, essas células com paredes espessas e lignificadas, formando um anel em volta do xilema e floema primário. Porém, o estudo não apresenta dados de enraizamento dos diferentes tipos de estacas de caramboleira.

Em estudo realizado por Peixe et al. (2007), os cortes histológicos efetuados na base das estacas nas duas cultivares de *Olea europaea* revelaram a inexistência de diferenças significativas quanto à anatomia do caule. No entanto, em ambas as cultivares notou-se a presença de um anel de esclerênquima com uma continuidade próxima dos 70% na cultivar Cobrançosa, e dos 60% na cultivar Galega vulgar, composto por 2-3 camadas de células bastante lignificadas. Diante disso, não foi possível justificar a diferença na capacidade de enraizamento das cultivares com base nas características anatômicas. Em base de estacas de *Euplassa inaequalis* coletadas em três épocas, Oliveira e Ribeiro (2013) não observaram a formação de anel contínuo de esclerênquima entre o floema e o córtex, apenas esclereides isolados, sendo notada diferença de percentual de enraizamento somente em decorrência da época de coleta, sendo maior o enraizamento e a sobrevivência das estacas coletadas no final da época seca.

Beakbane (1961), ao comparar brotos juvenis e maduros oriundos de uma mesma planta de macieira, observou que os brotos juvenis são relativamente livres de células escleróticas no floema primário em comparação a brotos advindos de uma região mais amadurecida da planta. O autor relacionou a capacidade de enraizamento desses brotos à proporção de células do floema primário bloqueadas por esclerênquima, observando a queda da capacidade de enraizamento com o aumento da presença de células escleróticas. Xavier et al. (2009) destacam que a baixa capacidade genética das árvores matrizes para formação de raízes adventícias, além do uso de propágulos com baixo grau de juvenilidade, são desfavoráveis ao enraizamento. O fato dos clones TC9 e TC15 não apresentarem diferenças nas características anatômicas entre SUB1 e SUB2 pode indicar que não houve efeito de revigoramento desses clones quando submetidos a dois subcultivos seriados ou que os clones avaliados da espécie *Toona ciliata* não apresentaram barreira anatômica ao enraizamento, nessa fase de desenvolvimento.

6. RESUMO E CONCLUSÕES

Toona ciliata apresenta-se como uma espécie madeireira de rápido crescimento, alto potencial produtivo e relevante valor comercial e isso tem despertado o interesse de investimentos em pesquisas e plantios da espécie.

Estudos revelam o sucesso da propagação vegetativa da espécie por miniestaquia, a partir do resgate de materiais adultos no campo. No entanto, este sucesso está atrelado à capacidade de obtenção de materiais juvenis, seja pelo uso de partes juvenis da planta, seja pelo revigoramento de partes adultas, a fim de que se aumentem as chances de enraizamento do propágulo, a rapidez na formação e qualidade das raízes e além de aumentar a capacidade de crescimento da nova planta. A miniestaquia seriada é uma das técnicas utilizadas para manter ou reverter a juvenilidade das plantas.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar e comparar a miniestaquia seriada com o cultivo de resgate do campo, por meio de coleta de brotações de cepas adultas no campo e posterior estabelecimento de minijardim clonal, quanto à produtividade, à qualidade do enraizamento e ao crescimento das mudas de três clones de *Toona ciliata*, bem como o aspecto morfológico das brotações das minicepas e a anatomia da base do caule das miniestacas enraizadas de dois dos clones.

Os minijardins clonais foram estabelecidos em canaletões, com mudas clonais produzidas a partir do resgate de brotações coletadas de cepas de três matrizes que sofreram corte raso (cultivo de resgate do campo); com mudas

oriundas de miniestacas do minijardim clonal anteriormente estabelecido (13 meses), formando o subcultivo 1 (SUB1); e mudas multiplicadas, por miniestaquia, a partir das miniestacas enraizadas do SUB1, formando o subcultivo 2 (SUB2).

Foram realizadas sete coletas sucessivas de brotações no SUB1, SUB2 e cultivo de resgate do campo, com intervalos de 30 dias, sendo avaliado o percentual de sobrevivência das minicepas, o número de brotações e a produção de miniestacas por minicepas. Em uma coleta em mês coincidente também foi avaliada a morfologia das brotações colhidas em minicepas selecionadas.

As miniestacas foram produzidas a partir das brotações coletadas das minicepas e estaqueadas em tubetes cônicos de polipropileno com capacidade de 280 cm³, contendo substrato comercial e adubo de liberação lenta (15-9-12). Aos 30 dias após o estaqueamento, na saída do setor de enraizamento, as miniestacas eram avaliadas quanto ao percentual de enraizamento, número de raízes de primeira ordem (NRPO) e segunda ordem (NRSO), comprimento total de raízes, comprimento total de raízes até 2 mm de diâmetro e diâmetro médio de raízes. Neste momento também foram coletados fragmentos da base das miniestacas dos clones TC9 e TC15 para caracterização anatômica.

As mudas produzidas ao final de 105 dias após o estaqueamento foram avaliadas quanto a sobrevivência, altura, diâmetro, área foliar, número e comprimento de raízes de primeira ordem, comprimento total de raízes, massa seca da parte aérea e sistema radicular, além da determinação do índice de qualidade de Dickson.

Pode-se concluir, nas condições experimentais descritas, que:

- As minicepas apresentaram alta sobrevivência independente da origem;
- As minicepas do clone TC3 produziram mais miniestacas no SUB2 em relação aos demais cultivos;
- Minicepas do clone TC15 foram mais produtivas em miniestacas, quando originadas de material resgatado de matrizes adultas (sete anos), dois anos após o corte raso;
- O efeito da miniestaquia seriada, após dois subcultivos, foi variável em função das características avaliadas;
- Houve diferença no comportamento dos materiais genéticos em função dos tratamentos;

- A morfologia das brotações das minicepas dos clones avaliados foi semelhante nos diferentes cultivos;
- Não houve efeito positivo dos dois cultivos seriados no enraizamento das miniestacas e na qualidade das mudas dos clones avaliados de *Toona ciliata*. Indicando um pequeno grau de revigoração nesse estágio;
- Não foram observadas barreiras anatômicas ao enraizamento dos clones nos diferentes tipos de cultivo avaliados, sendo necessários estudos posteriores que incluam ontogenia e outros testes histoquímicos.

Espera-se, com a continuidade dos trabalhos que maior número de subcultivos por miniestaquia seriada resulte no revigoração dos diferentes materiais estudados.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abraf. Anuário estatístico ABRAF (2013) Ano base 2012 / ABRAF. – Brasília, 148p.
- Abreu, M.F., Abreu, C. A., Bataglia, O. C. (2002) Uso da análise química na avaliação da qualidade de substratos e componentes. In: *Encontro nacional sobre substrato para plantas*, Campinas: Instituto Agrônomo, p. 17-28, (Documentos IAC, 70).
- Alfenas, A. C., Zauza, E. A. V., Mafia, R. G., Assis, T. F. (2004) *Clonagem e doenças do eucalipto*. Viçosa: Editora UFV, 442p.
- Altman, A., Waisel Y. (1996) Biology of root formation and development. In: *International Symposium on the Biology of Root Formation and Development*, Jerusalem. Proceedings... New York: Plenum, 371p.
- Altoé, J. A., Marinho, C. S. (2012) Miniestaquia seriada na propagação da goiabeira 'Paluma'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 34 (2):576-580.
- Amissah, J. N., Paolillo Jr., D. J., Bassuk, N. (2008) Adventitious root formation in stem cuttings of *Quercus bicolor* and *Quercus macrocarpa* and its relationship to stem anatomy. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 133 (4):479-486.
- Andrade, W. F. (2010) *Indução de rejuvenescimento de teca (Tectona grandis L. f) através de enxertia seriada e micropropagação*. Tese (Doutor em Ciências) –

- Piracicaba – SP. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ, 75p.
- Apezatto-da-Glória, B., Carmello-Guerreiro, S.M. (2006) *Anatomia vegetal*. 2ª rev. Viçosa: UFV, 438p.
- Azevedo, E. B., Marinho, C. S., Muniz, R. A., Carvalho, A. J. C. (2009) Substratos fertilizados com ureia revestida e o crescimento e estado nutricional da muda de citros. *Acta Scientiarum Agronomy*, Maringá, 31 (1):129-137.
- Bastos, D. B. (2005) *Propagação da caramboleira por estacas caulinares e caracterização anatômica e histológica da formação de raízes adventícias*. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Piracicaba – SP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ, 66p.
- Beakbane, A. B. (1961) Structure of the plant stem in relation to adventitious rooting. *Nature*, London, 196 (4806):954-955.
- Bolles Jones, E.W. (1954) Nutrition of *Hevea brasiliensis* I. Experimental methods. *Journal Rubber Research International Malaya*, v.14, 183p.
- Bonga, J. M., von Aderkas, P. (1992) *In vitro culture of trees*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 236p.
- Bortolini, M. F., Zuffellato-Ribas, K. C., Koehler, H. S., Carpanezi, A. A., Deschamps, C., Oliveira, M. de C., Bona, C., Mayer, J. L. S. (2008) *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn.: enraizamento, anatomia e análises bioquímicas nas quatro estações do ano. *Ciência Florestal*, Santa Maria, 18 (2):159-171.
- Braga, M. de M. (2011) *Crescimento e qualidade de mudas de cedro australiano (Toona ciliata M. Roem var. australis) em função da aplicação de calcário e enxofre*. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Lavras – MG, Universidade Federal de Lavras – UFLA, 81p.
- Canal do Produtor (2014) Exótico, cedro australiano dribla praga e ganha espaço. <http://www.canaldoprodutor.com.br/comunicacao/noticias/exotico-cedro-australiano-dribla-praga-e-ganha-espaco> em 28/11/14.
- Carmo, E. R. do (2012) *Produção de mudas de cedro australiano inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares em diferentes recipientes*. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 76p.
- Centro de Inteligência em Florestas (2014) http://www.ciflorestas.com.br/texto.php?p=cedro_australiano em 30/11/14.

- Daquinta, M., Lezcano, Y., Cid, M., Pina, D., Rodríguez, R. (2005) Morfogénesis in vitro de *Toona ciliata* a partir de raquis de hojas jóvenes con tidiazuron. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 7 (2):5-9.
- Davies Junior, F.T., Hartmann, H.T. (1988) The physiological basis of adventitious root formation. *Acta Horticulturae*, 227:113-120.
- Dias, P. C., Oliveira, L. S. de, Xavier, A., Wendling, I. (2012) Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. *Pesquisa Florestal Brasileira*, Colombo, 32 (72):453-462.
- Dickson, A., Leaf, A. L., Hosner, J. F. (1960) Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. *Forestry Chronicle*, Ontário, 36 (1):10-13.
- Dordel, J., Simard, S. W., Bauhus, J., Seely, B., Pozas, L. J., Prescott, C., Hampel, H. (2010) Trade-offs among establishment success, stem morphology and productivity of underplanted *Toona ciliata*: Effects of nurse-species and thinning density. *Forest Ecology and Management*, 259:1846–1855.
- Elbasheer, Y. H. A., Elkalifa, A. A. (2007) Anatomy of stem cuttings in relation to adventitious rooting of some forest trees. *African Journal of Sciences*, 1 (1):62-76.
- Fachinello, J. C., Hoffmann, A., Nachtigal, J. C. (2005) Propagação vegetativa por estaquia. In: Fachinello, J. C. Hoffmann, A.; Nachtigal, J. C. *Propagação de plantas frutíferas*. Pelotas: Embrapa Informações Tecnológicas, p. 69-109.
- Ferreira, D. de A. (2009) *Produtividade de minicepas de cedro australiano em minijardim multiclonal e influência da posição das miniestacas na qualidade das mudas*. Dissertação (Mestre em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 68p.
- Ferreira, D. de A., Barroso, D. G., Silva, M. P. S. da, Souza, J. S. de, Freitas, T. A. S. de, Carneiro, J. G. de A. (2012a) Influência da posição das miniestacas na qualidade de mudas de cedro australiano e no seu desempenho inicial no pós-plantio. *Ciência Florestal*, Santa Maria, 22 (4):715-723.
- Ferreira, R., Viana, A. P., Barroso, D. B., Resende, M. D. V., Amaral Júnior, A. T. (2012b) *Toona ciliata* genotype selection with the use of individual blup with repeated measures. *Scientia Agricola*, Piracicaba, 69 (3):210-216.
- Ferriani, A. P., Mayer, J. L. S., Zuffellato-Ribas, K. C., Bona, C., Koehler, H. S., Deschamps, C., Carpanezzi, A. A., Oliveira, M. de C. (2008) Estaquia e anatomia de vassourão-branco. *Scientia Agraria*, Curitiba, 9 (2):159-166.

- Figueiredo, A. C. S., Barroso, J. M. G., Pedro, L. M. G., Ascensão, L. (2007) *Histoquímica e Citoquímica em Plantas: Princípios e Protocolos*. 1 ed. Lisboa: Ciência de Biotecnologia Vegetal, 66p.
- Fonseca, E. de, Valéri, S. V., Miglioranza, E., Fonseca, N. A. N., Couto, L. (2002) Padrão de qualidade de mudas de *Trema micrantha* (L.) Blume, produzidas sob diferentes períodos de sombreamento. *Revista Árvore*, Viçosa, 26 (4):515-523.
- Frank, H.O., Favoreto, F. C., Trugilho, G. A., Sena, G. C., Nogueira, E. U., Gonçalves, E. de O., Lima, A. B. P. (2011) Germinação in vitro de sementes de cedro australiano (*Toona ciliata* - meliaceae). *Anais do XIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IX Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba*. São José dos Campos – SP. http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2009/anais/arquivos/0810_0814_01.pdf em 30/11/14.
- Freitas, J. A. A., Marinho, C. S., Freitas, I. L. de J. (2013) Goiabeiras *Paluma*, *Pedro Sato* e *Cortibel 6* propagadas por miniestaquia e miniestaquia seriada. *Ciência Rural*, Santa Maria, 43 (8):1351-1356.
- Giovannelli, A., Giannini, R (2000) Reinvigoration of mature chestnut (*Castanea sativa*) by repeated graftings and micropropagation. *Tree Physiology*, 20:1243-1248.
- Gomes, J. M., Paiva, H. N. (2011) Viveiros florestais: propagação sexuada. Viçosa, MG, UFV, 116p.
- Grattapaglia, D., Machado, M.A. (1998) Micropropagação. In: Torres, A. C.; Caldas, L. S.; Buso, J. A. (Ed.). *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília, DF: Embrapa – SPI, 1:183-260.
- Greenwood, M. S., Hutchison, K. W. (1993) Maturation as a developmental process. In: Ahuja, M. R., Libby, W. J. *Clonal forestry: genetics and biotechnology*. Budapest: Springer-Verlag, p. 14-33.
- Greenwood, M.S. (1995) Juvenility and maturation in conifers: current concepts. *Tree Physiology*, 15:433-438.
- Hackett, W. P., Murray, J. R. (1993) Maturation and rejuvenation in woody species. In: *Micropropagation of woody plants*. Dordrecht:Kluwer Academic, p. 93–105.
- Hackett, W. P. (1987) Juvenility and maturity. In: *Cell and tissue culture in forestry*. Dordrecht: Keuwer Academic Publishers, p. 216-231.

- Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies Jr, F. T., Geneve, R. L. (2011) *Plant propagation: principles and practices*. 8th ed. New Jersey, Prentice Hall, 915p.
- Husen, A., Pal, M. (2006) Variation in shoot anatomy and rooting behaviour of stem in relation to age of donor plants in teak (*Tectona grandis* Linn. f.). *New Forests*, Amsterdã, 31 (1):57-73.
- Kalil Filho, A. N., Hoffmann, H. A., Graça, M. E. C., Tavares, F. R. (2010) Enxertia de mogno em toona para a indução de resistência à *Hypsipyla grandella* (Zeller, 1948) no mogno sul-americano (*Swietenia macrophylla*). Embrapa Florestas. Colombo-PR (Boletim de Pesquisa Florestal, 5) p. 53-68.
- Lamprecht, H. (1990) *Silvicultura nos trópicos: ecossistemas florestais e respectivas espécies arbóreas – possibilidades e métodos de aproveitamento sustentado*. Dt. Ges. Für Techn. Zusammenarbeit (GTZ) GmbH, Eschborn. [tra. Guilherme de Almeida-Sedas e Gilberto Calcagnotto]. – Rossdorf: TZ - Verl.-Ges, 343p.
- Lamônica, K. R.; Freitas, T. P.; Oliveira, M. A., Carvalho, V. S.; Barroso, D. G. (2012) Resgate de Matrizes adultas de cedro australiano (*Toona ciliata*) em povoamentos. *Anais da XII Mostra de Pós-Graduação da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro*. Campos dos Goytacazes - RJ.
- Lamônica, K. R. (2013) *Produtividade de minicepas de clones de cedro australiano (Toona ciliata) e produção de mudas por miniestaquia*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 88p.
- Lovell, P. H., White, J. (1986) Anatomical changes during adventitious root formation. In: Jackson, M. B. *New Root Formation in Plants and Cuttings*. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers, p.111-140.
- Maluleque, I. F. (2014) *Qualidade de mudas e produtividade de minicepas de clones de cedro australiano (Toona ciliata M. Roemer var. australis) tratadas com paclobutrazol*. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Lavras – MG, Universidade Federal de Lavras – UFLA, 105p.
- Mangialavori, A., Minetti, M., Moscovich, F., Crechi, E. (2003) Dasometria en plantaciones comerciales de toona (*Toona ciliata* var. *australis*) em la Provincia de Salta. *Anais das Jornadas Técnicas Forestales y Ambientales*, Eldorado, Misiones, Argentina. Eldorado: Facultad de Ciencias Forestales.

- Mayer, J. L. S., Biasi, L. A., Bona, C. (2006) Capacidade de enraizamento de estacas de quatro cultivares de *Vitis* L. (Vitaceae) relacionada com os aspectos anatômicos. *Acta Botanica Brasilica*, 20 (3):563-568.
- Medrado, M. J. S., Appezzato-da-Glória, B., Costa, J. D. (1995) Alterações anatômicas em estacas de seringueira (*Hevea brasiliensis* clone RRIM 600) em resposta a diferentes técnicas de indução ao enraizamento. *Scientia Agricola*, Piracicaba, 52 (1):89-95.
- Moraes, D. G. de, Barroso, D. G., Figueiredo, F. A. M. M. de, Silva, T. R. da C., Freitas, T. A. S. de (2014) Enraizamento de miniestacas caulinares e foliares juvenis de *Toona ciliata* M. Roemer. *Magistra*, Cruz das Almas, 26 (1):47-54.
- Moretti, B. da S., Furtini Neto, A. E., Pinto, S. I. do C., Furtini, I. V., Magalhães, C. A. de S. (2011) Crescimento e nutrição mineral de mudas de Cedro australiano (*Toona ciliata*) sob omissão de nutrientes. *Revista Cerne*, Lavras, 17 (4):453-463.
- Mroginski, E., Rey, H. Y., Mroginski, L. A. (2003) *In vitro* plantlet regeneration from Australian Red Cedar (*Toona ciliata*, Meliaceae). *New Forests*. 25:177-184.
- Murakami, C. H. G. Cedro australiano: valorização de espécies nobres. Boletim Florestal: Informativo Florestal do Norte Pioneiro, ano 2, n. 7, fev. 2008. http://www.forestbrazil.com.br/images/admin/boletim_1202960284.pdf em 12/01/14.
- Oliveira, L. S. (2011) *Micropropagação, microestaquia e miniestaquia de clones híbridos de Eucalyptus globulus*. Dissertação (Mestre em Ciência Florestal) – Viçosa – MG, Universidade Federal de Viçosa – UFV, 70p.
- Oliveira, M. C. de, Ribeiro, J. F. (2013) Enraizamento de estacas de *Euplassa inaequalis* (Pohl) Engl. de mata de galeria em diferentes estações do ano. *Bioscience Journal*, Uberlândia, 29 (4):991-999.
- Oliveira, B. de A., Gallo, R., Moura, L. C. de, Xavier, A., Otoni, W. C. (2014) Estabelecimento in vitro de cedro australiano (*Toona ciliata*). *Anais do 3º Encontro brasileiro de Silvicultura*. Campinas-SP. <http://www.expoforest.com.br/silvicultura/wp-content/uploads/2013/09/encontro-silvicultura-2014-pag-229.pdf> em 03/12/14.
- Ono, E. O., Rodrigues, J. D. (1996) *Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares*. Jaboticabal: FUNEP, 83p.

- Painel Florestal (2013a) Setor florestal se sobressai em um 2012 de baixo crescimento econômico. <http://www.painelflorestal.com.br/noticias/brasil/setor-florestal-se-sobressai-em-um-2012-de-baixo-crescimento-economico> em 30/11/14.
- Painel Florestal (2013b) Bela Vista Florestal já trabalha na 2ª geração de cultivares clonados de cedro australiano. <http://www.painelflorestal.com.br/noticias/investimento/bela-vista-florestal-ja-trabalha-na-2-geracao-de-cultivares-clonados-de-cedro-australiano> em 30/11/14.
- Paiva, Y. G., Mendonça, G. S., Silva, K. R. da, Nappo, M. E., Cecílio, R. A., Pezzopane, J. E. M. (2007) Zoneamento agroecológico de pequena escala para *Toona ciliata*, *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus urophylla* na Bacia Hidrográfica do Rio Itapemirim – ES, utilizando dados SRTM. *Anais do Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto*, Florianópolis. INPE, p. 1785-1792.
<http://marte.sid.inpe.br/col/dpi.inpe.br/sbsr@80/2006/11.15.22.05/doc/1785-1792.pdf> em 30/11/14.
- Parker, S. R., White, T. L., Hodge, G. R., Powell, G. L. (1998) The effects of scion maturation on growth and reproduction of grafted slash pine. *New forests*, 15:243-259.
- Peixe, A., Serras, M., Campos, C., Zavattieri, M^a A., Dias, M^a. A. S. (2007) Estudo histológico sobre a formação de raízes adventícias em estacas caulinares de oliveira (*Olea europaea* L.). *Revista de Ciências Agrárias*, 3 (1):476-482.
- Pereira, M. de O. (2014) *Resgate vegetativo e propagação via estaquia e miniestaquia de Toona ciliata M. Roem. var. australis (F. Muell.) Bahadur*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Curitiba – PR. Universidade Federal do Paraná – UFPR, 113p.
- Pinheiro, A. L., Lani, L. L., Couto, L. (2003) *Cultura do Cedro Australiano para Produção de Madeira Serrada*. Viçosa – UFV, 42p.
- Raven, P. H., Evert, R. F., Eichhorn, S. E. (2001) *Biologia Vegetal*. 6 ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 906p.
- Ricken, P., Mattos, P. P., Braz, E. M., Kalil Filho, A. N. (2011) Crescimento diamétrico de *Toona ciliata* var. *australis* em Adrianópolis, PR. Comunicado Técnico 285, Colombo-PR: Embrapa Floresta, 4p.

- Scocchi, A., Dieringer, E., Mroginski, E., Mroginski, L. (2006) Conservación de semillas de Cedro Australiano (*Toona ciliata*). *Plant Genetic Resources Newsletter*, FAO – IPGRI, 137:22-25.
- Sementes Caiçara (2013) Cedro australiano. Disponível em: <http://www.sementescaicara.com.br/Sementes/Cedro/cedro1.htm>, Acesso em: novembro 2014.
- Silva, M. P. S., (2010) *Qualidade das mudas produzidas por miniestaquia e produtividade de minicepas de cedro australiano, manejadas em canaletões e tubetes*. Dissertação (Mestre em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 49 p.
- Silva, M. P. S., Barroso, D. G., Souza, J. S., Ferreira, D. A., Carneiro, J. G. A. (2012) Enraizamento de miniestacas e produtividade de minicepas de cedro australiano manejadas em canaletões e tubetes. *Ciência Florestal*, Santa Maria, 22 (4):703-713.
- Souza, J. C. A. V. de, Barroso, D. G., Carneiro, J. G. A., Teixeira, S. L., Balbinot, E. (2009) Propagação vegetativa de cedro-australiano (*Toona ciliata* M. Roemer) por miniestaquia. *Revista Árvore*, Viçosa, 33 (2):205-213.
- Souza, J. C. A. V. de, Barroso, D. G., Carneiro, J. G. A. (2010) *Cedro australiano (Toona ciliata)*. Programa Rio Rural. Niterói-RJ (Manual Técnico; 21) 12p.
- Souza, J. S. de, Barroso, D. G., Silva, M. P. S. da, Ferreira, D. de A., Gravina, G. de A., Carneiro, J. G. de A. (2014) Produtividade de minicepas de cedro australiano e remoção de nutrientes pela coleta sucessiva de miniestacas. *Ciência Florestal*, Santa Maria, 24 (1):71-77.
- Tavares, R., Viana, A. P., Barroso, D. B., Amaral Júnior, A. T. (2012) Genetic diversity in australian cedar genotypes selected by mixed models. *Ciência Agrotecnica*, Lavras, 36 (2):171-179.
- Titon, M. (2001) *Propagação clonal de Eucalyptus grandis por miniestaquia e microestaquia*. Dissertação (Mestre em Ciência Florestal) – Viçosa – MG, Universidade Federal de Viçosa – UFV, 65p.
- Titon, M., Xavier, A., Otoni, W. C. (2002) Dinâmica do enraizamento de microestacas e miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. *Revista Árvore*, 26:665-673.

- Titon, M., Xavier, A., Otoni, W. C., Reis, G. G. (2003) Efeito do AIB no enraizamento de miniestacas e microestacas de clones de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. *Revista Árvore*, 27:1-7.
- Vilela, E. S., Stehling, E. de C. (2013) Recomendações de plantio para Cedro Australiano. Apostila de recomendações da Bela Vista Florestal. http://www.belavistaflorestal.com.br/informativos_e_documentos.php em 07/01/15.
- Xavier, A., Wendling, I., Silva, R. L. da. (2009) *Silvicultura clonal: princípios e técnicas*. Viçosa, MG. Ed. UFV, 272p.
- Wendling, I., Xavier, A. (2003a) Miniestaquia seriada no rejuvenescimento de clones de *Eucalyptus*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 38 (4):475-480.
- Wendling, I., Xavier, A., Paiva, H. N. de. (2003b) Influência da miniestaquia seriada no vigor de minicepas de clones de *Eucalyptus grandis*. *Revista Árvore*, Viçosa, 27 (5):611-618.
- Wendling, I., Xavier, A. (2005a) Influência da miniestaquia seriada no vigor radicular de clones de *Eucalyptus grandis*. *Revista Árvore*, Viçosa, 29 (5):681-689.
- Wendling, I., Xavier, A. (2005b) Influência do ácido indolbutírico e da miniestaquia seriada no enraizamento e vigor de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. *Revista Árvore*, Viçosa, 29 (6):921-930.
- Wendling, I., Trueman, S. J., Xavier, A. (2014) Maturation and related aspects in clonal forestry—part II: reinvigoration, rejuvenation and juvenility maintenance. *New Forests*, Dordrecht, 45:473–486.
- Wiesman, Z., Lavee, S. (1995) Relationship of carbohydrate sources and indole-3butyric acid in olive cuttings. *Australian Journal of Plant Physiology*, 22:811-816.
- Zaczek, J. J., Steiner, K. C., Heuser, C. W. Jr., Tzilkowski, W. M. (2006) Effects of serial grafting, ontogeny, and genotype on rooting of *Quercus rubra* cuttings. *Canadian Journal of Forest Research*, 36:123-131.
- Zimmermann, F. J. P. (2004) *Estatística aplicada à pesquisa agrícola*. EMBRAPA Arroz e Feijão, 400p.

APÊNDICE

Tabela 1A: Análise de variância do número de folhas (NF), número de folíolos por folha (NFL/F), área foliar por folha (AF/F), e massa seca (MSB) das brotações de minicepas de três clones de *Toona ciliata*, em função do tipo de cultivo

Causas de variação	G.L.	NF	NFL/F	AF/F	MSB
		-----Q.M.-----			
Tipo de cultivo	2	0,4125	13,2765**	13058,1**	0,6376**
Clone	2	0,0410	13,5175**	1614,7	0,1123
Cultivo X Clone	4	0,4292	2,0639	2291,8	0,0777
Resíduo	27	0,2457	1,6405	913,0	0,0720

Significativo a 5% pelo teste de Tukey; **Significativo a 1% pelo teste de Tukey.

Tabela 2A: Análise de variância do percentual de enraizamento (%ENR), número de raiz de primeira ordem (NRPO) e de segunda ordem (NRSO), comprimento de raízes de primeira ordem (CTRPO) de miniestacas de três clones de *Toona ciliata*, aos 30 dias após o estaqueamento, em função do tipo de cultivo

Causas de variação	G.L.	%ENR	NRPO	NRSO	CTRPO
		-----Q.M.-----			
Tipo de cultivo	2	8,6525*	0,3423	6,7170	0,2565
Ciclo	2	6,0607	0,6437	4,9335	0,0911
Clone	2	0,7264	0,6356	13,5942**	0,2681
Cultivo X Clone	4	6,5080*	0,1865	3,8439	0,1104
Resíduo	97	2,1290	0,2928	2,7568	0,1459

Significativo a 5% pelo teste de Tukey; **Significativo a 1% pelo teste de Tukey.

Tabela 3A: Análise de variância do comprimento total de raízes (CTR), comprimento total de raízes até 2 mm de diâmetro (CTR (Ø 0 - 2mm)) e diâmetro médio de raízes (DMR) de miniestacas de três clones de *Toona ciliata*, aos 30 dias após o estaqueamento, em função do tipo de cultivo

Causas de variação	G.L.	CTR	CTR (Ø 0 - 2mm)	DMR
		-----Q.M.-----		
Tipo de cultivo	2	0,2030	0,2316	0,3803**
Ciclo	2	0,1288	0,1258	0,3663**
Clone	2	0,4863	0,4817	0,0982
Cultivo X Clone	4	0,1541	0,1545	0,1212*
Resíduo	97	0,1609	0,1618	0,0393

Significativo a 5% pelo teste de Tukey; **Significativo a 1% pelo teste de Tukey.

Tabela 4A: Análise de variância do percentual de sobrevivência (%SOB), altura (H) e diâmetro a altura do colo (DAC), área foliar (AF) e massa seca de parte aérea (MSPA) de mudas de três clones de *Toona ciliata*, produzidas por miniestaquia, aos 105 dias após o estaqueamento, em função do tipo de cultivo

Causas de variação	G.L.	%SOB	H	DAC	AF	MSPA
		-----Q.M.-----				
Tipo de cultivo	2	4,3621*	6,3803*	1,0432*	0,2463**	0,0246**
Clone	2	15,1949**	9,3513**	0,9707	0,1777*	0,0215**
Cultivo X Clone	4	3,6912*	2,1301	1,7198**	0,1028**	0,0067
Resíduo	27	1,2092	1,4310	0,2937	0,0337	0,0032

Significativo a 5% pelo teste de Tukey; **Significativo a 1% pelo teste de Tukey.

Tabela 5A: Análise de variância do número de raízes de primeira ordem (NRPO), comprimento total de raízes de primeira ordem (CTRPO), comprimento total de raízes (CTR), massa seca do sistema radicular (MSSR) e índice de qualidade de Dickson (IQD) de mudas de três clones de *Toona ciliata*, produzidas por miniestaquia, aos 105 dias após o estaqueamento, em função do tipo de cultivo

Causas de variação	G.L.	NRPO	CTRPO	CTR	MSSR	IQD
		-----Q.M.-----				
Tipo de cultivo	2	1,0248**	0,1967**	0,1793*	0,0046*	0,0288
Clone	2	0,5288*	0,1796**	0,2732*	0,0111**	0,0474*
Cultivo X Clone	4	0,5009*	0,1632**	0,1479*	0,0058**	0,0329*
Resíduo	27	0,1339	0,0291	0,0509	0,0013	0,0088

Significativo a 5% pelo teste de Tukey; **Significativo a 1% pelo teste de Tukey.