



UNIVERSIDADE FEDERAL DO SUL DA BAHIA
CAMPUS JORGE AMADO
CENTRO DE FORMAÇÃO EM CIÊNCIAS AGROFLORESTAIS
BACHARELADO EM ENGENHARIA FLORESTAL

TAÍS CONCEIÇÃO DOS SANTOS

ESTRATÉGIAS PARA MELHORIA DO ENRAIZAMENTO DE CLONE DE EUCALIPTO

ITABUNA - BA

2023

TAIS CONCEIÇÃO DOS SANTOS

**ESTRATÉGIAS PARA MELHORIA DO ENRAIZAMENTO DE CLONE DE
EUCALIPTO**

Trabalho de Conclusão de Curso
submetido ao Centro de Formação em
Ciências Agroflorestais da Universidade
Federal do Sul da Bahia, com vistas a
obtenção do título de Bacharel em
Engenharia Florestal.

Orientador: Dr. Andrei Caíque Pires Nunes

ITABUNA - BA
2023

**Catálogo na Publicação (CIP)
Universidade Federal do Sul da Bahia (UFSB)
Sistema de Bibliotecas (SIBI)**

S237e Santos, Taís Conceição dos, 1997-

Estratégias para melhoria do enraizamento de clone de eucalipto / Taís Conceição dos Santos. – Itabuna: UFSB, 2023.- 42f.

Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Sul da Bahia. Campus Jorge Amado, Centro de Formação em Ciências Agroflorestais, Engenharia Florestal, 2023.
Orientador: Dr. Andrei Caíque Pires Nunes.

1. Eucalipto – Melhoramento genético. 2. Eucalipto - Mudas. 3. Árvores - Mudas. I. Título. II. Nunes, Andrei Caíque Pires.

CDD – 582.16


TAÍS CONCEIÇÃO DOS SANTOS

**ESTRATÉGIAS PARA MELHORIA DO ENRAIZAMENTO DE CLONE DE
EUCALIPTO**

Trabalho de Conclusão de Curso
submetido ao Centro de Formação em
Ciências Agroflorestais da Universidade
Federal do Sul da Bahia, com vistas a
obtenção do título de Bacharel em
Engenharia Florestal.

Orientador: Dr. Andrei Caique Pires Nunes

Aprovado: 13 / 12 / 2023.

Documento assinado digitalmente
 **ANDREI CAIQUE PIRES NUNES**
Data: 14/12/2023 11:08:16-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Andrei Caique Pires Nunes
(Orientador)
Universidade Federal do Sul da Bahia – UFSB



Alexandre Arnhold
(Membro Convidado)
Universidade Federal do Sul da Bahia – UFSB



Esp. Dr. Leonardo Novaes Rosse
(Membro Convidado)
Eldorado Brasil Celulose S/A

Dedicado aos meus pais,
Jaciara Mendes da Conceição e Domingos dos Santos, por toda inspiração.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Jaciara Mendes da Conceição e Domingos dos Santos, e aos meus irmãos, por serem minha base, fonte dos meus valores e das minhas motivações.

À Universidade Federal do Sul da Bahia, por me proporcionar a realização do curso, contribuindo na minha formação acadêmica e profissional.

À empresa Eldorado Brasil Celulose e toda equipe de Melhoramento Genético Florestal, pela oportunidade em desenvolver meu trabalho de conclusão de curso e pelas contribuições profissionais.

Ao professor Andrei Caíque Pires Nunes, pela orientação, incentivo e apoio durante essa trajetória, pela atenção, paciência e os diversos ensinamentos compartilhados.

Ao professor Alexandre Arnhold, pelas contribuições e todo suporte fornecido.

Àqueles professores que se destacaram no exercício do ensino, ao demonstrar paixão e dedicação em seu trabalho.

À Calline de Jesus e Vítor Benjamin pelo apoio de sempre, pelo acolhimento e por estarem juntos nessa jornada florestal.

Aos meus amigos, pelos momentos de descontrações, reflexões e por auxílio nos momentos difíceis.

Expresso minha sincera gratidão a todos que, de maneira direta e indireta, somaram no meu desenvolvimento acadêmico, profissional e pessoal.

“Um povo sem o conhecimento de sua história, sua origem e sua cultura são como uma árvore sem raízes.”

Marcus Garvey

RESUMO

Um dos desafios para os avanços da silvicultura florestal e programas de melhoramento é o enraizamento de miniestacas oriundas de materiais genéticos com alto potencial genotípico. A propagação vegetativa é influenciada por diversas interferências ambientais, que podem dificultar a produção de propágulos de qualidade. Dentro deste contexto, o objetivo desse trabalho foi testar estratégias com o uso do estufim, posição de miniestacas e as características das mudas que originam as minicepas, para aumentar o índice de enraizamento em um clone com baixo potencial vegetativo. Disposto em duas fases, o experimento avaliou na primeira etapa a porcentagem de enraizamento, sobrevivência, incidência de calos e massa seca da raiz de miniestacas apicais (porção do ápice do propágulo), miniestacas basais (porção da base do propágulo) e a testemunha (propágulo convencional utilizado pela empresa) de minicepas primárias. Estabelecido em Delineamento Inteiramente Casualizado - DIC com 456 repetições por tratamento, conduzido em casa de vegetação. Com os resultados obtidos da etapa anterior, iniciou-se a segunda fase com a seleção dos dois melhores tratamentos da primeira etapa (miniestacas apicais e testemunha), denominado como os níveis do fator Origem das minicepas secundárias. Houve a classificação desses dois tratamentos em relação ao tamanho das mudas, em altura superior a 5 cm (Destaque) e inferior a essa medida (Padrão), caracterizando como os níveis do fator nomeado de Tipo. Posteriormente, a partir dessas mudas, houve a geração de minicepas secundárias em canaletes com e sem estufim, último fator do experimento. O desenho experimental utilizado foi o DIC com arranjo fatorial 3x2 e 20 repetições por tratamento. A avaliação ocorreu a partir da coleta de miniestacas das minicepas secundárias. As variáveis dessa fase foram produtividade da matriz, porcentagem de enraizamento, calos, sobrevivência, altura e massa seca da raiz. Em comparação a miniestaca basal e testemunha, a miniestaca apical apresentou maiores ganhos para enraizamento (81%), calos (4%) e massa seca da raiz (0,48 g), seguido da testemunha. A sobrevivência para miniestaca basal obteve o melhor aproveitamento, taxa de 97%. Na segunda fase da pesquisa considerando os fatores, a produtividade foi superior para minicepas originadas das mudas destaque, com 9,55 miniestacas/matriz. A diferença da taxa de

sobrevivência das miniestacas coletadas dentro do canaleta com o estufim, para o canaleta sem essa cobertura, obteve um ganho de 6%. Minicepas originadas de mudas de miniestacas apicais com tamanho padrão (< 5 cm), tiveram o menor índice de enraizamento dos propágulos coletados, 48%. Em contrapartida, o maior valor foi encontrado para as miniestacas coletadas de minicepas destaque (> 5 cm) no canaleta sem estufim. Resultados de incidência de calos foram observados abaixo de 23% para as miniestacas das minicepas destaques e oriundas da testemunha, ambas na ausência do estufim. Em resposta a variável massa seca da raiz, minicepas originadas da testemunha foram superiores à de origem apical em 50%, na ausência do estufim. Os resultados indicam que a utilização de miniestacas apicais possuem maior potencial de enraizamento. Recomenda-se uso de minicepas de origem convencional (testemunha) e provenientes das mudas altas, sem o uso de estufim.

Palavras-chave: Melhoramento Genético. Produção de Mudas. Miniestacas. Clonagem.

ABSTRACT

One of the challenges for advances in forest silviculture and improvement programs is the rooting of minicuttings from genetic materials with high genotypic potential. Vegetative propagation is influenced by various environmental interferences, which can hinder the production of quality propagules. Within this context, the objective of this work was to test strategies using the greenhouse, position of minicuttings and the characteristics of the seedlings that originate the ministumps, to increase the rooting rate in a clone with low vegetative potential. Arranged in two phases, the experiment evaluated in the first stage the percentage of rooting, survival, callus incidence and root dry mass of apical minicuttings (portion of the apex of the propagule), basal minicuttings (portion of the base of the propagule) and the control (conventional propagule used by the company) of primary ministumps. Established in a Completely Randomized Design - DIC with 456 replications per treatment, conducted in a greenhouse. With the results obtained from the previous stage, the second phase began with the selection of the two best treatments from the first stage (apical minicuttings and control), called the levels of the factor Origin of secondary ministumps. These two treatments were classified in relation to the size of the seedlings, in height greater than 5 cm (Highlight) and less than this measurement (Standard), characterizing the levels of the factor named Type. Subsequently, from these seedlings, secondary mini-stumps were generated in channels with and without a greenhouse, the last factor of the experiment. The experimental design used was the DIC with a 3x2 factorial arrangement and 20 replications per treatment. The evaluation occurred based on the collection of minicuttings from secondary ministumps. The variables in this phase were matrix productivity, rooting percentage, callus, survival, height and root dry mass. Compared to the basal minicutting and control, the apical minicutting showed greater gains in rooting (81%), callus (4%) and root dry mass (0.48 g), followed by the control. Survival for basal minipiling had the best use, a rate of 97%. In the second phase of the research considering the factors, productivity was higher for mini-stumps originating from the highlighted seedlings, with 9.55 mini-cuttings/matrix. The difference in the survival rate of the mini-cuttings collected inside the channel with the covering, to the channel without this covering, achieved a gain of 6%. Ministumps originating from seedlings of apical minicuttings with standard size (< 5 cm) had the lowest rooting rate of the collected propagules, 48%. On the other hand, the highest value was found for minicuttings collected from prominent ministumps (> 5 cm) in the canelete without a greenhouse. Callus incidence results were observed below 23% for minicuttings from the highlighted ministumps and those from the control, both in the absence of stucco. In response to the variable dry mass of the root, ministumps originating from the control were 50% higher than those from apical origin, in the absence of stucco. The results indicate that the use of apical minicuttings has greater rooting potential. It is recommended to use mini-stumps of conventional origin (control) and from tall seedlings, without the use of greenhouse.

Keywords: Genetic Improvement. Seedling production. Minicuttings. Cloning.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| RESUMO..... | 8 |
| ABSTRACT | 10 |
| 1. INTRODUÇÃO | 12 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 14 |
| 2.1 Melhoramento Genético de <i>Eucalyptus</i>..... | 14 |
| 2.2 Propagação clonal..... | 15 |
| 3. METODOLOGIA | 17 |
| 3.1 Localidade e planejamento experimental..... | 17 |
| 3.2 Estaqueamento das miniestacas e delineamento experimental .. | 20 |
| 3.3 Classificação de mudas e produção de minicepas secundárias . | 22 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES..... | 25 |
| 4.1 Minicepas primárias: etapa 1..... | 25 |
| 4.1.1 Sobrevivência, enraizamento, calos e massa seca | 25 |
| 4.2 Minicepas secundárias: etapa 2..... | 27 |
| 4.2.1 Produtividade das minicepas..... | 28 |
| 4.2.2 Sobrevivência das miniestacas | 30 |
| 4.2.3 Enraizamento | 31 |
| 4.2.4 Calogênese | 34 |
| 4.2.5 Altura e massa seca da raiz das miniestacas..... | 37 |
| 5. CONCLUSÕES..... | 39 |
| REFERÊNCIAS..... | 40 |

1. INTRODUÇÃO

Em programas de melhoramento do eucalipto é comum ocorrerem indivíduos superiores para caracteres de interesse econômicos, selecionados em testes de progênes, com alto valor genotípico, porém com baixo potencial vegetativo para clonagem. Quando estes materiais genéticos heteróticos são enviados para o programa de clonagem, muitos apresentam baixa taxa de enraizamento e alta mortalidade das miniestacas. Assim, o potencial genotípico inicialmente constatado em testes de progênes não é aproveitado via clonagem, em virtude das dificuldades operacionais para induzir enraizamento em larga escala destes materiais. Portanto, desenvolver ferramentas e estratégias para contornar as limitações inerentes ao processo de clonagem, principalmente de materiais genéticos testados e de alto potencial, é crucial para o avanço da silvicultura brasileira e aproveitamento do valor genotípico dos indivíduos.

Em 2022 o setor florestal alcançou o marco de 9,94 milhões de hectares de áreas cultivadas, com destaque para o eucalipto (76%) e o pinus (19%), crescimento correspondente a 0,3% em relação ao ano anterior (IBÁ, 2023). Concomitantemente a esses avanços, o investimento em tecnologia, pesquisa e desenvolvimento tem sido a base na melhoria do processo e produção florestal, o que proporcionou o aumento na capacidade de plantio de mudas (OLIVEIRA, 2016; IBÁ, 2023). E nesse cenário, o setor de produção de mudas é responsável por manter a renovação e expansão das florestas plantadas. O índice de enraizamento das miniestacas é uma das principais dificuldades enfrentadas por esta área, impactando a viabilidade econômica e produtiva do viveiro (FERNANDES et al., 2018) e etapas cruciais do programa de melhoramento genético florestal.

A clonagem é o principal método para produção de mudas de espécies de *Eucalyptus*, com o uso da técnica de miniestaquia, procedimento que envolve a utilização de propágulos juvenis coletados de minicepas em jardim clonal para gerar as mudas (FERREIRA et al., 2012; MARAVILHA et al., 2023). Entretanto, associado a essa propagação vegetativa, há alguns desafios a serem superados. Os propágulos coletados de diferentes partes da mesma matriz podem exibir padrões de crescimento e desenvolvimento distintos entre si, por

exemplo, brotos localizados na parte inferior ou central têm características mais juvenis se comparado às regiões superiores e periféricas (HIGASHI *et al.*, 2000). Outra influência é que matrizes mais velhas tendem a ter maior variabilidade nas características do que as mais juvenis, além das condições ambientais e nutricionais que afetam a qualidade dos brotos (HIGASHI *et al.*, 2000) e o tipo da miniestaca. Embora o método de miniestaquia seja amplamente utilizado, os fatores que exercem influência sobre o enraizamento podem restringir a produção de mudas clonais, ocasionando o crescimento da área dos minijardins clonais nos viveiros afim de atingir a meta de produção, ou a retirada do material do programa de melhoramento genético.

A taxa de enraizamento pode ser afetada por diversos fatores, como a juvenilidade e posição das miniestacas dentro das minicepas, diâmetro e número de folhas, período de coleta, material genético, umidade e temperatura, fotoperíodo (ASSIS & REIS, 2023). Nicoloso *et al.* (1999), em seu estudo com *Pfaffia glomerata* evidenciou que miniestacas das porções basais e medianas apresentam maior capacidade de enraizamento e desenvolvimento em campo, com resultados que superaram em 21% as miniestacas apicais. Já Benin *et al.* (2013), reportou em sua pesquisa com *Eucalyptus benthamii*, utilizando tipos de miniestacas apicais, intermediárias e basais, que o enraizamento da espécie variou conforme o clone e o melhor desempenho não ultrapassou 61%, e os maiores ganhos foram das miniestacas apicais. Nota-se que espécies e clones podem apresentar dificuldade relacionada a rizogênese, o que reduz o aproveitamento com a propagação vegetativa (BORGES *et al.*, 2011). Constata-se que pesquisas que avaliam as diversas fontes de variação do enraizamento são essenciais para compreender o comportamento dessa variável, sendo base para o desenvolvimento de estratégias de maior ganho no aproveitamento dos propágulos clonais.

O desenvolvimento de novas tecnologias e procedimentos visando a melhoria na qualidade e quantidade de mudas estão cada vez mais presentes no setor florestal (SOMAVILLA, 2020). Á exemplo temos o uso do estufim, estrutura em forma de túnel coberta por plástico, utilizados nos canaletes do minijardim clonal (ASSIS, 2011). Com a criação de um microambiente para minicepas do minijardim clonal, o estufim proporciona mudanças na

concentração de CO₂, alterações na temperatura, umidade e irradiação solar, que favorece a produtividade, qualidade e enraizamento das miniestacas (OLIVEIRA, 2016). Diante do exposto até o momento, pesquisas que investigam as fontes de variação do enraizamento são escassas, dificultando o desenvolvimento de novos métodos para produção de miniestacas com maior índice de enraizamento. Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi testar estratégias com o uso do estufim, posição de miniestacas e as características fenotípicas das mudas que originam as matrizes, em um clone com baixo potencial vegetativo, para produção de minicepas com alto potencial de enraizamento de suas miniestacas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Melhoramento Genético de *Eucalyptus*

O setor florestal para eucalipto tem sido crescente nos últimos anos, à exemplo temos o crescimento em área plantada de 2 milhões de hectares no Brasil entre 2010 à 2022, destacando-se os estados de Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e São Paulo (IBÁ, 2023). Esse progresso no setor, está relacionado ao desenvolvimento de materiais genéticos com maior capacidade produtiva, sobretudo pelos avanços na hibridação, clonagem e técnicas de manejo florestal (ASSIS, 2016).

O melhoramento genético consiste na intensiva seleção e recombinação dos melhores progenitores portadores de fenótipos para caracteres de interesse econômico. Estes progenitores geram novos indivíduos superiores, a partir do potencial genético da variabilidade existente nas populações de melhoramento (NUNES *et al.*, 2017). Para produzir indivíduos superiores em crescimento, adaptação e qualidade, os programas de melhoramento genético tem desempenhado um papel crucial (ASSIS & MAFIA, 2007). Possibilitando o enfrentamento aos desafios no setor florestal que prejudica o crescimento e manutenção da produtividade, como o distúrbio fisiológico, déficit hídrico, ventos, geadas, doenças, insetos.

A diminuição do potencial genético em decorrência dos processos de propagação que envolve as atividades de resgate, clonagem, qualidade de mudas e falhas de plantio, tem sido uma das fontes de baixo aproveitamento de indivíduos selecionados nos programas de melhoramento (ASSIS *et al.*, 2023). A propagação vegetativa é utilizada em diversas fases do programa: como no estabelecimento dos testes clonais - TC, através do resgate de material e clonagem do mesmo; utilização nos TC para formação dos testes clonais ampliados - TCA; e por fim, dos TCA para montagem dos minijardins clonais operacionais (ASSIS *et al.*, 2023). A execução dessas etapas favorece o aumento da interferência negativa no desempenho dos clones. Além disso, a modificação do sistema radicular durante o processo de propagação vegetativa, influencia na expressão do potencial genético. Em qual o sistema radicular pivotante do indivíduo selecionado é substituído por um sistema radicular adventício, que se caracteriza por ser mais superficial.

Na cultura do eucalipto tem sido estimados ganhos genéticos em torno de 1% ao ano, podendo obter incrementos entre 3 m³ a 5 m³ na produtividade da madeira (RESENDE *et al.*, 2011). Contudo, é uma atividade de longo prazo e de alto custo, que necessita de pesquisas que favoreça o melhor aproveitamento nos processos do programa de melhoramento. Nesse cenário, um objetivo comum é a obtenção indivíduos aptos à clonagem. Que consiste em uma ferramenta amplamente utilizada para propagação de indivíduos com alto valor genotípico, e o principal método utilizado nos viveiros de eucalipto para produção massal de mudas.

2.2 Propagação clonal

A clonagem de espécies florestais foi desenvolvida na década de 50 na Austrália e França, e atualmente é o principal método de propagação vegetativa no Brasil (ASSIS e MAFIA, 2007). Com o avanço em pesquisas com propagação clonal nos anos 70, na década de 90 foram desenvolvidas as técnicas de miniestaquia e microestaquia (ALFENAS *et al.*, 2004; SILVA, 2008).

Na silvicultura clonal o uso da técnica de propagação vegetativa resulta na multiplicação assexuada de algumas partes das plantas, como células, tecidos, órgãos ou propágulos que estejam em condições favoráveis morfogeneticamente (NOGUEIRA, 2023). A importância desse método está na possibilidade de multiplicar o material superior de modo homogêneo, reproduzindo os ganhos genotípicos provenientes dos programas de melhoramento genético florestal (WENDLING, 2003; FAGANELLO *et al.*, 2015). Além disso, a propagação vegetativa possibilita maiores ganhos genéticos que a propagação sexuada, por capitalizar os desvios de dominância, sobredominância, heterose e relações inter e intra alélicas intrínsecas dos indivíduos clonados (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2013). Entretanto, há alguns desafios que necessitam de estudos, como a dificuldade de enraizamento em alguns clones e o estreitamento da base genética (WENDLING; DUTRA, 2010).

A cultura do eucalipto apresenta diversos métodos de propagação vegetativa, aplicados nas espécies do gênero. As principais técnicas empregadas comercialmente incluem a miniestaquia, estaquia, microestaquia, micropropagação e enxertia (FERRARI *et al.*, 2004). No entanto, é importante destacar que a técnica de miniestaquia tem sido amplamente utilizada no país, devido às suas numerosas vantagens, como a utilização de maior grau de juvenilidade do material genético, aumento nas taxas de enraizamento, redução de tempo para formar mudas (TITON *et al.*, 2002; MAFIA *et al.*, 2005; ALMEIDA, 2007).

A miniestaquia consiste na utilização de propágulos vegetativos, denominados miniestacas, para produção de mudas (ASSIS, 2007). Esses propágulos são retirados de minicepas (plantas doadoras dos propágulos) estabelecidos em minijardim, que possui maior grau de juvenilidade e predisposição ao enraizamento adventício de suas miniestacas. Os melhores resultados obtidos mediante o uso dessa técnica, também podem estar associados ao menor grau de lignificação dos propágulos (ASSIS *et al.*, 2023). Alguns estudos evidenciam a eficiência da miniestaquia, como o trabalho de Souza Júnior e Wenling (2005) sobre a avaliação da miniestaquia de *E. dunnii* oriundos de propágulos juvenis, em qual obtiveram enraizamento de 70% a 90% das mudas, resultados que representaram a eficiência do método para espécie.

A compreensão dos fatores que influenciam a formação de raízes é crucial, uma vez que está diretamente ligada ao êxito ou fracasso na produção de mudas por meio do método de estaquia (NORBERTO, 1999). A multiplicação de plantas através do método de miniestquia é um processo influenciado por diversos fatores que afetam o desenvolvimento e a diferenciação das raízes. Tais fatores são: o tipo de espécie trabalhada, a presença de substâncias indutoras ou inibidoras de enraizamento, o tipo de miniestaca, a fase juvenil dos brotos, a existência de gemas e/ou folhas, o momento da coleta das estacas, efeito da dormência, as condições ambientais durante o enraizamento e o estado nutricional das plantas (KRAMER & KOZLOWSKI, 1972; HARTMANN & KESTER, 1983; HIGASHI *et al.*, 2000). Umidade relativa do ar, temperatura, luz, a composição química e física do substrato e alguns estresses ambientais, também podem influenciar no enraizamento das miniestacas. Esse cenário é notadamente impactado também pela sazonalidade e manejo das matrizes, levando a uma redução na produção de mudas de qualidade (PENCHEL & LYRA, 1996). Em vista das dificuldades de enraizamento do material maduro, o rejuvenescimento de células e tecidos é um importante aspecto para o alcance efetivo da clonagem (TITON *et al.*, 2002). Podendo ser considerado uma forma de reverter as plantas do estágio maduro para o juvenil, restaurando sua competência ao enraizamento.

3. METODOLOGIA

3.1 Localidade e planejamento experimental

A pesquisa foi conduzida no viveiro de produção de mudas da empresa Eldorado Brasil Celulose, sendo subdividida em duas etapas:

- Etapa 1: Consistiu em analisar a influência da posição de coleta da miniestaca na minicepa primária quanto ao enraizamento (Figura 1). Nessa fase foi realizada o procedimento de coleta e estaqueamento de miniestacas basais, apicais e testemunhas (Figura 2).

Figura 1 – Representação das miniestacas utilizadas. A miniestaca apical (A) refere-se à porção do ápice do propágulo vegetativo, a miniestaca basal (B) feita a partir da porção da base, e a miniestaca testemunha (T) é a miniestaca convencional utilizada pela empresa, sem divisão do ápice e da base.

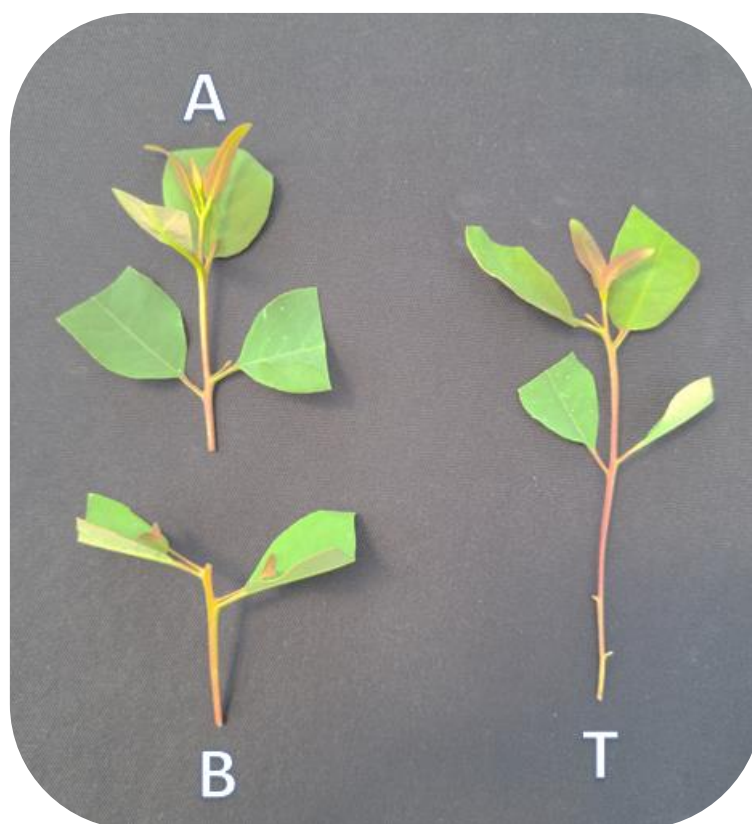


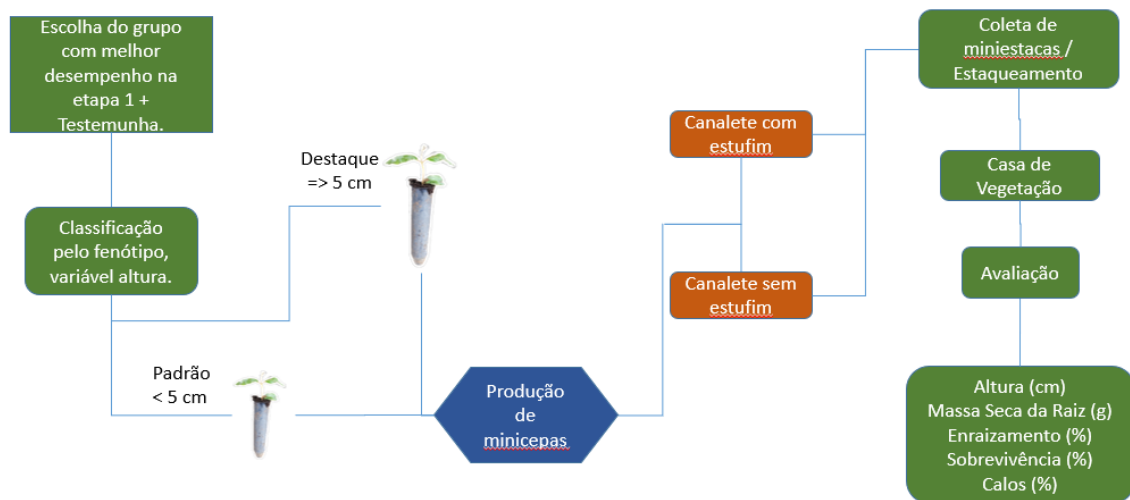
Figura 2 – Fluxograma com a demonstração do processo da coleta de miniestacas até a avaliação pós casa de vegetação na primeira etapa do experimento.



- Etapa 2: Seleção do tratamento com melhor desempenho na etapa 1 e a testemunha, para geração de potenciais minicepas com melhor potencial de enraizamento (minicepa secundária). Houve a classificação das mudas dentro do tratamento, divididas em dois grupos (Figura 3): àquelas que se destacaram na bandeja apresentando altura igual ou superior a 5 cm

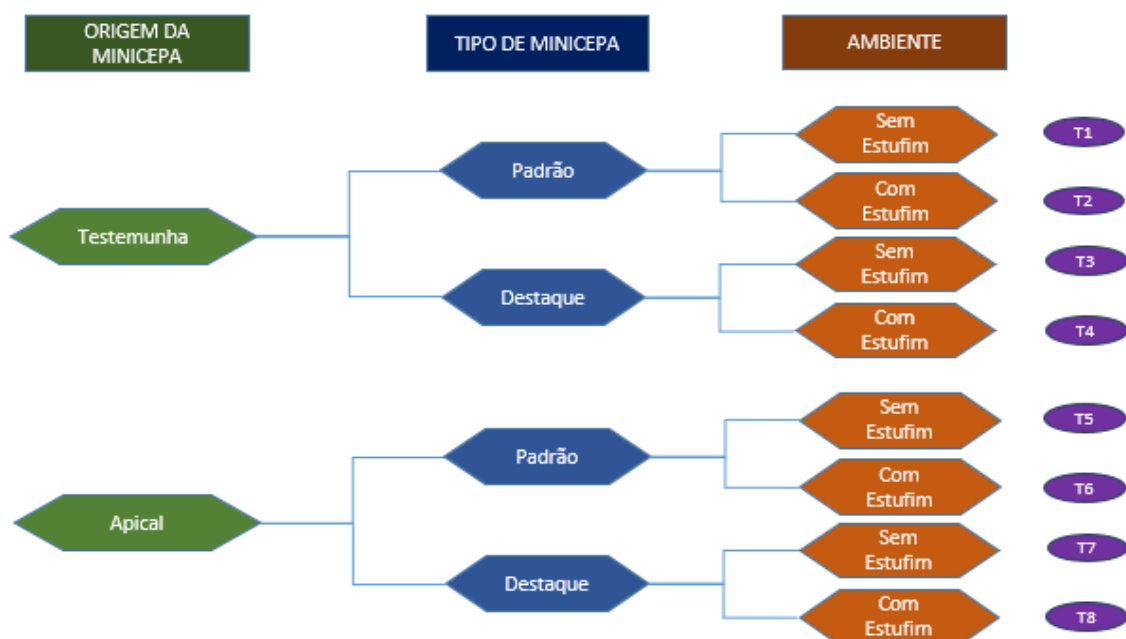
(Destaque); e o segundo grupo com altura abaixo dessa medida (Padrão). Posteriormente foram colocados em dois ambientes para gerar as minicepas, sendo um canaleta com estufim e outro sem. A avaliação foi realizada com as variáveis enraizamento, sobrevivência, calos, massa seca e altura.

Figura 3 – Fluxograma com a demonstração da segunda etapa com a classificação das mudas em grupos Destaque e Padrão.



Nessa segunda fase teremos oito tratamentos, três fatores com dois níveis cada (Figura 4).

Figura 4 – Representação dos tratamentos avaliados na pesquisa após a classificação da etapa anterior.



* A Origem da Minicepa refere-se à procedência da muda adquirida na etapa 1, mudas do grupo Testemunha vs. Apical. A escolha da Apical foi devido ao melhor desempenho nos resultados obtidos na etapa 1, que será abordado posteriormente no texto. O Ambiente corresponde às condições das matrizes no canaleta, com a presença e ausência da estrutura do estufim. O Tipo de Minicepa diz respeito a procedência da minicepa quanto a classificação por altura, Destaque vs. Padrão.

3.2 Estaqueamento das miniestacas e delineamento experimental

Em 15 de maio de 2023 miniestacas basais, apicais e testemunha do material genético ELD 08 da empresa Eldorado foram coletadas em minijardim clonal (Figura 5), durante o período da manhã e com duração de 30 minutos cada. O clone ELD 08 possui alto valor genotípico e baixo índice de enraizamento. Este material genético foi escolhido como exemplar de genótipo com baixo potencial vegetativo a ser submetido às técnicas de clonagem para melhoria da produtividade de miniestacas.

As miniestacas foram acondicionadas em caixas térmicas, sendo borrifadas com água constantemente para manter a turgescência do material. Pós coleta, houve o estaqueamento dos propágulos em tubete (capacidade de 55 ml) com substrato composto por fibras da casca de coco com o suplemento de fertilizante de liberação lenta, Osmocote. Em seguida foram encaminhadas

para casa de vegetação, durante o período de 29 dias, e posteriormente para casa de aclimação onde permaneceram por oito dias.

Figura 5 – Fase inicial da coleta de miniestacas no minijardim clonal e estaqueamento do clone ELD08. Duas bandejas foram estaqueadas para cada tratamento, as miniestacas apicais e basais foram coletadas e estaqueadas simultaneamente, afim de diminuir o tempo em qual o propágulo ficou sob estresse, o mesmo foi realizado para testemunha.



O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com dois tratamentos (miniestaca basal e apical) e a testemunha, cada tratamento teve 456 repetições cada (Figura 6).

Figura 6 – Tratamentos na casa de vegetação após o estaqueamento.



As características avaliadas após a casa de vegetação incluíram a porcentagem de sobrevivência, calos, enraizamento e massa seca da raiz. Foram consideradas vivas as mudas esverdeadas e com brotações, enraizadas aquelas com resistência para sair do tubete ou com raízes visíveis no fundo.

Para avaliação da massa seca da raiz (Figura 7) selecionou-se 80 amostras de cada tratamento para análise destrutiva. As amostras foram retiradas dos tubetes e as raízes lavadas, embaladas em saco de papel, identificadas e colocadas para secar à 60 graus Celsius por 72 horas. Posteriormente, houve a pesagem do material.

Figura 7 – Procedimentos para avaliação da massa seca das raízes dos tratamentos estudados. Com as etapas de retirada do tubete, lavagem das raízes, embalagem do material para secagem na estufa e aferição da massa.



Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de *Tukey*, utilizando-se o software *Rbio* (BHERING, 2017).

3.3 Classificação de mudas e produção de minicepas secundárias

As mudas apicais foram selecionadas devido ao melhor desempenho quanto ao enraizamento na etapa 1, superando os demais tratamentos. Ao sair da casa de vegetação as mudas apicais foram separadas em dois grupos (Figura 8): o primeiro com as que se destacaram, apresentando tamanho igual ou superior a 5 cm (Destaque), e o segundo grupo com materiais abaixo dessa medida (Padrão). A testemunha foi submetida ao mesmo procedimento.

Os tratamentos tiveram 20 repetições cada, dispostos em delineamento inteiramente casualizado. As mudas permaneceram na casa de aclimação por oito dias e foram transferidas para o setor de crescimento.

Figura 8 – Separação das bandejas com mudas originadas de miniestacas apicais e testemunha para geração das minicepas secundárias. Houve a classificação das mudas de acordo com sua altura, realizando as medições de cada unidade e identificando o grupo a qual pertenceria, destaque (> 5 cm) ou padrão (< 5 cm). Nessa etapa foram organizados dois fatores do experimento: Origem e Tipo, com seus respectivos níveis.



O plantio das mudas em canaleta para formação de minicepas ocorreu após 39 dias no setor de crescimento (Figura 9). Os ambientes consistiam em canaleta com e sem o estufim. Em cada ambiente, foram implantados dois blocos: um para mudas provenientes da miniestaca apical e outro como testemunha. Cada bloco continha 80 indivíduos intercalados, distribuídos em 20 mudas do tipo destaque, 20 do tipo padrão e 40 mudas complementares, alcançando assim a densidade de 80 minicepas/m². Cada minicepa secundária foi identificada com uma placa informando o número de ordem, tipo (padrão ou destaque), origem (testemunha ou apical) e estufim (com ou sem) e a data. O estufim possuía 101 cm de largura por 50 cm de altura, os horários de abertura e fechamento eram às 9h00min e às 16h00min, respectivamente.

Figura 9 – Da esquerda para direita, delineamento das minicepas no canaleta com estufim e outro canaleta sem. Dividido em dois blocos considerando a origem das minicepas secundárias, originadas de miniestaca apical ou da testemunha. Uma subdivisão foi realizada para intercalar as minicepas que foram classificadas como destaque ou padrão.



A avaliação dos tratamentos foi através da coleta das miniestacas das minicepas secundárias (Figura 10), utilizando as variáveis de altura, massa seca da raiz porcentagem de enraizamento, sobrevivência, calos e a produtividade baseada no desempenho da produção de miniestacas/minicepa..

Figura 10 – Coleta de miniestacas das minicepas secundárias. As bandejas foram identificadas de acordo com os níveis dos fatores estudados (Origem, Tipo de Minicepas e o uso de Estufim). As miniestacas foram identificadas com a numeração de sua minicepa de origem.



Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de *Tukey*, utilizando-se o programa o *software Rbio* (BHERING, 2017).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Minicepas primárias: etapa 1

4.1.1 Sobrevivência, enraizamento, calos e massa seca

As miniestacas oriundas das minicepas primárias apresentaram sobrevivência acima de 88% e enraizamento geral até 81%, aos 29 dias (Tabela 1). O enraizamento da miniestaca basal apesar de ter maior porcentagem de sobrevivência (97%), demonstrou menor enraizamento (45%) e maior porcentagem de calos, 11% acima do menor valor apresentado. Já o resultado para o enraizamento de miniestacas apicais foi alto na ordem de 81%, superando a testemunha, além de apresentar o melhor percentual para calos, 4%. A porcentagem de sobrevivência de miniestacas apicais foi 89 %.

Tabela 1 – Análise de variância para as variáveis sobrevivência (SOB), enraizamento (ENR), calos (CAL) de miniestacas provenientes das miniestacas primárias.

| Tipo de Miniestaca | SOB (%) | ENR (%) | CAL (%) |
|--------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Testemunha | 88 ^a | 61 ^b | 9 ^{ab} |
| Apical | 89 ^a | 81 ^a | 4 ^b |
| Basal | 97 ^a | 45 ^c | 15 ^a |

*Médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de *Tukey* ao nível de 95% de confiança.

Os valores encontrados para sobrevivência não diferem estatisticamente, evidenciando as condições adequadas da casa de vegetação para manutenção das miniestacas, principalmente no controle do ambiente. Contudo, nota-se que entre os tipos de miniestacas, o maior valor encontrado para sobrevivência, são para a miniestaca basal. O que pode estar relacionado também ao gradiente de juvenilidade, tendo em vista que as porções basais dos propágulos apresentam maior juvenilidade fisiológica e maior teor de lignificação do tecido (XAVIER *et al.*, 2009). Em contrapartida, há um declínio drástico no desempenho da miniestaca basal quanto ao enraizamento e massa seca da raiz, e o aumento do índice de calogênese. Esse tipo de miniestaca possui capacidade reduzida para formação de raízes, devido a menor concentração dos fitorreguladores

endógenos (TAIZ & ZEIGER, 2004). Além disso são mais vulneráveis as condições ambientais, que ocasiona o estresse (WENDLING & XAVIER, 2005; BENIN, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2012). Esses fatores podem explicar os resultados obtidos para a miniestaca basal.

Em relação a massa seca das raízes, os resultados para miniestacas apicais e testemunha, mostraram-se superiores, com rendimentos acima de 125% em relação a massa seca da miniestaca da porção basal (Gráfico 1 e Figura 11).

Gráfico 1 – Média da massa seca da raiz (g) para os tratamentos estudados. Médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de *Tukey* ao nível de 95% de confiança.

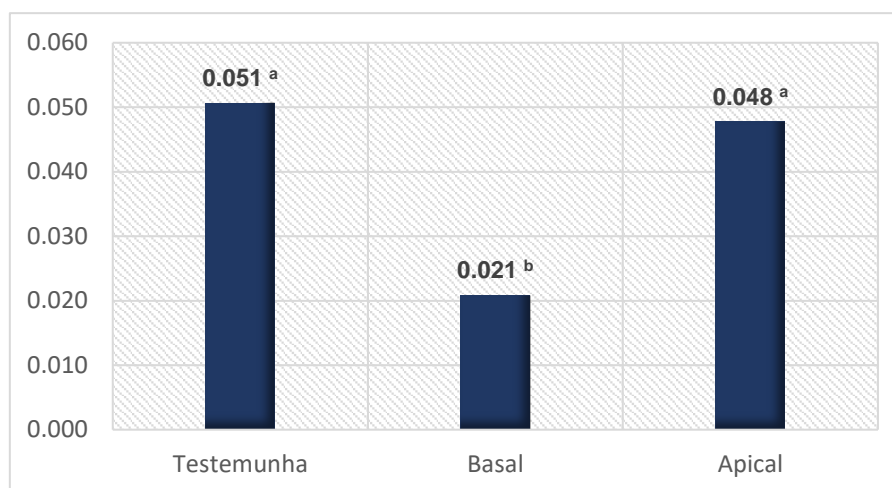
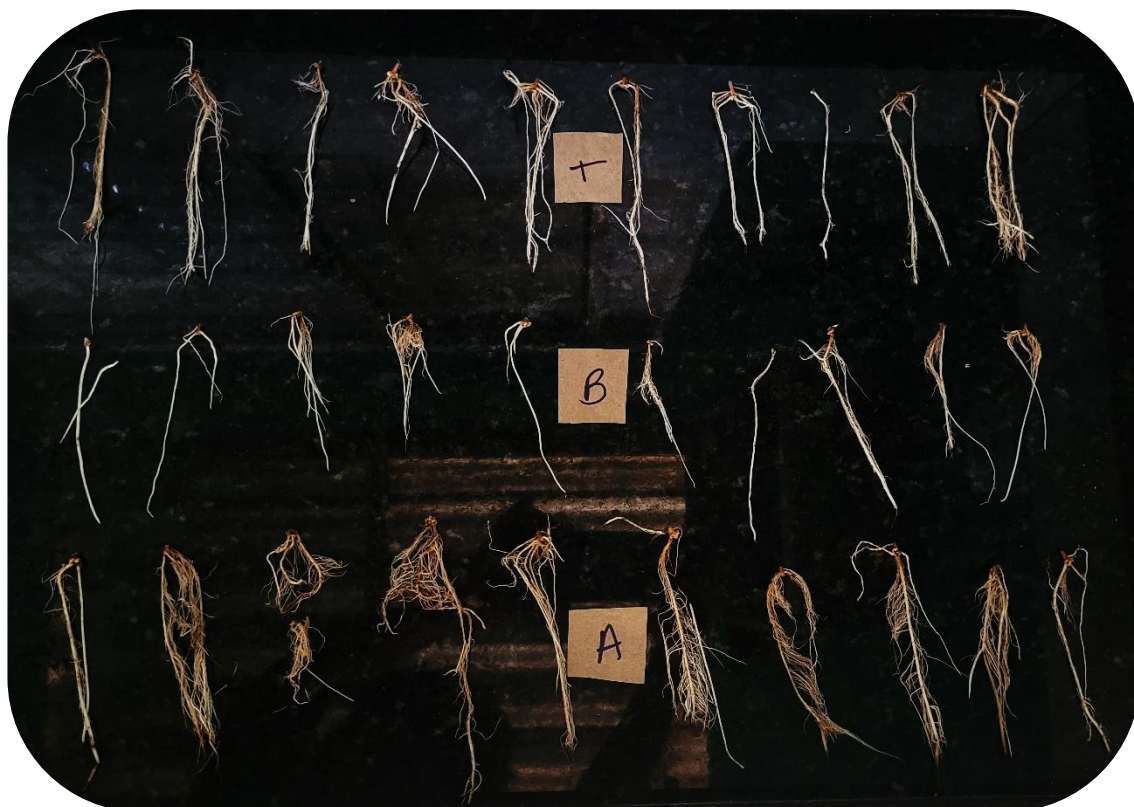


Figura 11 – Representação amostral das raízes da miniestaca testemunha (T), miniestaca basal (B) e a miniestaca apical (A).



O enraizamento, taxa de calos e sobrevivência na miniestaca apical foram superiores à testemunha. E apesar da porcentagem de enraizamento do tratamento com a miniestaca apical ter sido superior a 20% comparado a testemunha, a resposta para a massa seca da raiz para esses dois tratamentos foi estatisticamente igual. Provavelmente, esse comportamento se deve a maior presença de área foliar na miniestaca testemunha, e consequentemente maior produção de carboidratos na fotossíntese e síntese de auxinas potencializando o processo de enraizamento (XAVIER *et al.*, 2003), condição que igualou os resultados para os tipos de miniestacas em questão.

4.2 Minicepas secundárias: etapa 2

Foi constatado significância no fator origem para as variáveis enraizamento, calos e massa seca da raiz. Também para a variável

produtividade em resposta ao tipo de minicepa, e para o uso de estufim em relação a sobrevivência e massa seca da raiz.

Tabela 2 – Análise de variância para as variáveis produtividade das minicepas secundárias (PRO), sobrevivência (SOB), enraizamento (ENR), calos (CAL), altura (ALT) e massa seca da raiz (MS) das miniestacas. Para verificação de diferenças entre os níveis dos fatores nas estratégias utilizadas no estudo.

| Fontes de variação | PRO | SOB | ENR | CAL | ALT | MS |
|-------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | p-valor | p-valor | p-valor | p-valor | p-valor | p-valor |
| Origem | 0,780 | 0,554 | 0,027* | <0,001* | 0,059 | <0,001* |
| Tipo | 0,041* | 0,518 | 0,243 | 0,113 | 0,860 | 0,426 |
| Estufim | 0,980 | 0,027* | 0,400 | 0,202 | 0,228 | 0,016* |
| Origem x Tipo | 0,666 | 0,218 | 0,017* | 0,053 | <0,001* | 0,906 |
| Origem x Estufim | 0,493 | 0,130 | 0,532 | 0,036* | 0,018* | 0,016* |
| Tipo x Estufim | 0,110 | 0,085 | <0,001* | <0,001* | 0,078 | 0,108 |
| Origem x Tipo x Estufim | 0,135 | 0,466 | 0,571 | 0,341 | 0,478 | 0,973 |
| CV (%) | 34,31 | 19,06 | 41,04 | 66,19 | 28,44 | 43,4 |

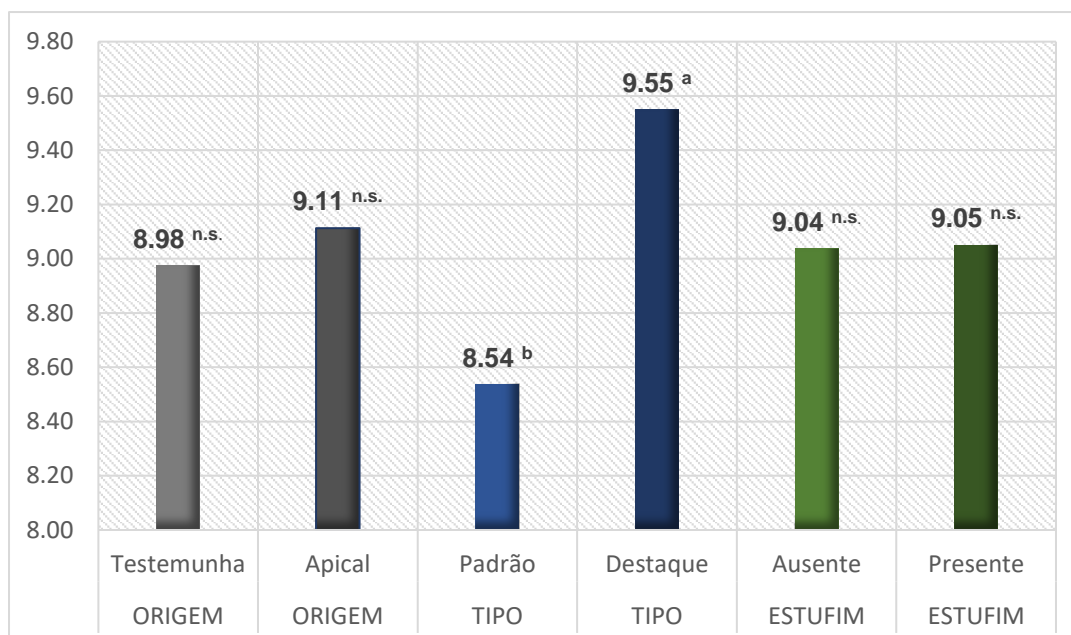
*significativo ao nível de significância de 5%. As fontes de variação são como referentes aos fatores Origem, Tipo e Estufim. A Origem refere-se à procedência da muda adquirida na etapa 1 que originou a minicepa secundária, Testemunha e Apical, sendo os níveis do fator. O Tipo diz respeito a procedência da minicepa quanto a classificação por altura, níveis Destaque (>5 cm) vs. Padrão (<5 cm). O fator Estufim corresponde as condições das matrizes no canaleta, com a presença e ausência da estrutura do estufim.

Além disso, houve efeito da interação entre os níveis dos fatores Origem x Tipo, Origem x Estufim e Tipo x Estufim, para as variáveis em estudo. Com exceção para as variáveis produtividade e sobrevivência que não apresentaram resultados significativos para as interações.

4.2.1 Produtividade das minicepas

Considerando a primeira coleta de miniestacas nas minicepas secundárias (matrizes), os fatores com a origem da minicepa e uso do estufim são estatisticamente iguais, com média geral de 9 miniestacas/minicepa. Quanto ao tipo da minicepa, a matriz destaque supera a produtividade da padrão em 12%, sendo o maior resultado encontrado entre os tratamentos avaliados.

Gráfico 2 - Média da produtividade de miniestacas/minicepa de acordo com cada tratamento aplicado.



*Médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de *Tukey*, ao nível de 95% de confiança.

A quantidade de miniestacas obtidas pelas minicepas varia em decorrência do material genético, manejo do minijardim, vigor fisiológico, condições edafoclimáticas (OLIVEIRA, 2016). E a sazonalidade climática exerce influência na coleta das miniestacas (HARTMANN *et al.*, 2002). Nesse contexto, o uso do estufim não favoreceu o aumento na produtividade de miniestacas/matriz para o clone estudado, o mesmo ocorre ao considerar a origem da minicepa. Resultados esses que contrapõem os trabalhos de Assis (2011) e Batista *et al.* (2015), em quais concluíram que a utilização de estufins aumenta a produtividade das cepas em minijardim clonal.

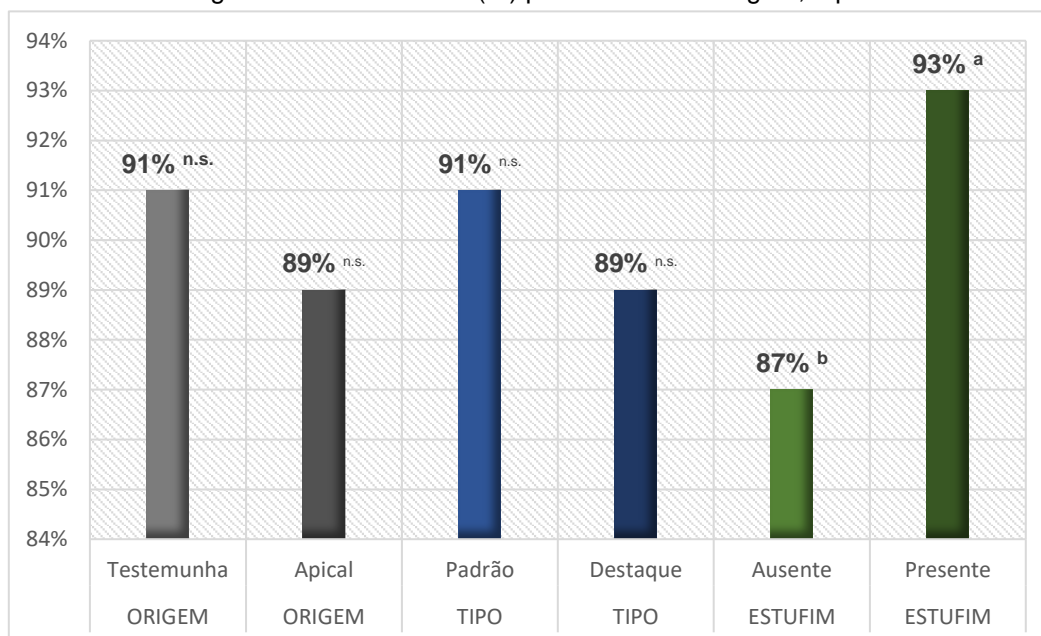
Quanto a influência da origem da minicepa na produtividade, verificamos que não há diferenciação entre eles. Ao considerar o tipo, as minicepas padrão (oriundas de mudas abaixo de 5 cm) produzem menor quantidade de miniestacas se comparado aquelas destaque (originadas de mudas acima de 5 cm). O efeito da altura de minicepas influencia na produtividade, resultado que pode estar associado a maior concentração hormonal nas regiões do ápice. Em pesquisa com *Corymbia*, nota-se um comportamento oposto ao encontrado nesse trabalho, minicepas mais baixas tendem a ter maior produtividade de

miniestacas, devido ao gradiente de juvenilidade de materiais de menor tamanho (WENDLING *et al.*, 2015).

4.2.2 Sobrevivência das miniestacas

Na produção de mudas com a primeira coleta, a sobrevivência foi significativa ao nível de 5% para o uso do estufim (Gráfico 3). O qual proporcionou uma taxa de sobrevivência 6% superior ao tratamento sem o uso da estrutura.

Gráfico 3 – Porcentagem de sobrevivência (%) para os fatores Origem, Tipo e Estufim.



*Médias seguidas por mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de *Tukey*, ao nível de 95% de confiança.

O menor resultado para sobrevivência dentro do experimento foi observado no tratamento sem estufim (87%). Para as outras variáveis as médias foram iguais estatisticamente, e não houve interações significativas. Nota-se a porcentagem de sobrevivência promissora dos tratamentos, acima de 89% de aproveitamento.

O estado fisiológico das minicepas está diretamente relacionado ao material genético utilizado, sendo influenciada por variáveis ambientais como umidade, temperatura, concentração de CO² e luminosidade (HARTMANN *et al.*,

2011). Quando as condições ambientais estão no nível adequado favorece o desenvolvimento e crescimento da planta-matriz, já que possibilita a redução de estresse e aumento da taxa de fotossíntese (LIMA et al., 2021). De acordo com Hartmann et al. (2011), existe uma interação complexa entre fatores ambientais e os níveis de auxinas endógenas na minicepa. E uma pressuposição é que as condições ambientais adequadas podem levar ao acúmulo positivo de carboidratos, impactando positivamente a produtividade, a sobrevivência (devido ao maior acúmulo de reservas) e o enraizamento (GANGUÇU, 2020). Fatores que podem explicar a alta sobrevivência nos tratamentos avaliados no presente estudo.

Outro elemento relevante que afeta a sobrevivência das minicepas e qualidade das miniestacas é a ocorrência de pragas e doenças, como o fungo *Oidium sp.* que atacam regiões jovens, como gemas e as brotações (GANGUÇU, 2020). Durante a condução desse trabalho foi observado a ocorrência desse fungo na área experimental, sendo a incidência mais acentuada no canetele sem estufim. As fontes de disseminação do oídio é ar, chuva, contaminação entre plantas, e na cultura do eucalipto ocorre principalmente nos períodos mais quente e de estiagem (KRUGNER & AUER, 2005; BOVOLINI et al, 2018). Pesquisas com minicepas de eucalipto com a utilização de estufim, revelam redução significativa de doenças, como o oídio (MARTINS & SILVEIRA, 2014; RUIZ, 2019), o que pode ser atribuído a proteção da cobertura contra o vento e a chuva. Esse fato pode explicar a menor sobrevivência de miniestacas que foram coletas das minicepas sem estufim, tendo em vista que o estresse foi minimizado para as minicepas cobertas pelo estufim, aumentando a qualidade das miniestacas.

4.2.3 Enraizamento

Os resultados da análise de variância evidenciaram que o enraizamento não teve efeitos significativos nos fatores estufim, origem e tipo de minicepa. Mas foi observado efeitos das interações entre Origem x Tipo (Tabela 3), e Tipo x

Estufim, indicando que os tratamentos responderam diferentemente ao enraizamento.

Tabela 3 – Análise de variância para a variável enraizamento (ENR), verificando as interações entre os níveis dos fatores Origem x Tipo.

| | ENR |
|-------------------------|---------|
| | p-valor |
| Origem: Tipo Padrão | 0,001 * |
| Origem: Tipo Destaque | 0,897 |
| Tipo: Origem Testemunha | 0,382 |
| Tipo: Origem Apical | 0,012* |

*significativo ao nível de significância de 5%.

Com base na análise de variância para a interação entre o fator de origem e tipo, foi detectado que o efeito da interação foi significativo para a Origem dentro do nível padrão do fator tipo, e o fator tipo dentro do nível do fator origem (Tabela 4). O enraizamento para as miniestacas de origem apical e tipo padrão apresentaram um percentual de 48%, 17% abaixo do maior valor encontrado.

Tabela 4 – Desdobramento das interações significativas por meio do teste de *Tukey* ao nível de significância de 5%, para a variável enraizamento. Verificando a resposta do enraizamento de miniestacas com base na origem e tipo de minicepa.

| Origem | Tipo | |
|------------|-------------------|-------------------|
| | Padrão | Destaque |
| Testemunha | 65% ^{aA} | 61% ^{Aa} |
| Apical | 48% ^{bB} | 61% ^{aA} |

**Médias seguidas da mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem entre si. As letras minúsculas na horizontal referente a interação de cada nível do fator Origem dentro dos níveis do fator Tipo. As letras maiúsculas na vertical correspondem a cada nível do fator Tipo dentro dos níveis do fator Origem.

Poucos são os estudos disponíveis para compreender a influência do grau de juvenildade na produção de minicepas com maior capacidade de gerar miniestacas com alto potencial de enraizamento.

Quanto mais juvenil o material coletado, maior o aumento em relação ao enraizamento, rapidez de formação e capacidade de crescimento da planta nova. E pode-se inferir que nos materiais juvenis a morfogênese atua mais eficientemente nos tecidos (TORRES, 2003). Esses fatores podem explicar o

menor índice de enraizamento na interação das miniestacas das minicepas padrão e originadas de mudas apicais. Já que a origem apical para minicepas secundárias pressupõe um menor grau de juvenilidade e provável diminuição na qualidade fisiológica da minicepa, apesar dessas mudas terem bom desempenho anteriormente com o enraizamento. Além disso, o fato das mudas que geraram as minicepas terem sido as menores, pode ter contribuído para afetar o enraizamento, assim como foi visto para variável produtividade.

A interação Tipo x Estufim também foi significativa para a porcentagem de enraizamento, em qual foi evidenciado os efeitos dos níveis sem estufim e tipo destaque (Tabela 5). Com o desdobramento pelo teste de *Tukey* ao nível de 5% de significância (Tabela 6), as miniestacas provenientes das minicepas destaque sem o uso do estufim (69%). Os demais resultados tiveram um aproveitamento inferior a 53%.

Tabela 5 – Análise de variância para a variável enraizamento (ENR), verificando as interações entre os níveis dos fatores Tipo x Estufim.

| | ENR |
|------------------------|---------|
| | p-valor |
| Tipo: Sem Estufim | 0,002 * |
| Tipo: Com Estufim | 0,116 |
| Estufim: Tipo Padrão | 0,382 |
| Estufim: Tipo Destaque | 0,012* |

*significativo ao nível de significância de 5%.

Tabela 6 – Desdobramento das interações significativas por meio do teste de *Tukey* ao nível de significância de 5%, para a variável enraizamento. Verificando a resposta do enraizamento de miniestacas com base no estufim e tipo de minicepa.

| Estufim | Tipo | |
|----------|-------------------|-------------------|
| | Padrão | Destaque |
| Ausente | 52% ^{bA} | 69% ^{aA} |
| Presente | 61% ^{aA} | 53% ^{aB} |

*Médias seguidas da mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem entre si. As letras minúsculas na horizontal referente a interação de cada nível do fator Estufim dentro dos níveis do fator Tipo. As letras maiúsculas na vertical correspondem a cada nível do fator Tipo dentro dos níveis do fator Estufim.

Minicepas destaques, providas de mudas mais alta (>5 cm), teve o maior porcentagem de enraizamento, 69%, na ausência do estufim. A interação com o uso do estufim favoreceu o enraizamento para as miniestacas das minicepas destaque e padrão. Resultado que não foi muito discrepante dos encontrados para o canalete sem estufim. Nesse contexto, temos a situação que durante os meses de duração do experimento as temperaturas climáticas no local excederam por longos períodos a marca de 37° C alcançando a máxima de 40 ° C, o que pode ter favorecido o potencial de enraizamento do material que não utilizou estufim. Segundo Assis (2011), o uso de estufim promove o aumento do enraizamento e minimiza a incidência de calos durante a produção de mudas. Processo relacionado ao aumento da divisão celular para formação de raízes favorecidos pelas altas temperaturas até certo ponto (HARTMANN *et al.*, 2011), e a influência da concentração de nutrientes nos tecidos a qual tem sua absorção dependente da atividade metabólica.

4.2.4 Calogênese

Os resultados para a porcentagem de calos foram significativos para o fator origem da minicepa. Houve efeitos nas interações dos níveis entre os tratamentos: Origem x Estufim, e Tipo x Estufim. O efeito da interação Origem x Estufim para a variável calos foi significativo para os níveis sem estufim e minicepas originadas da testemunha (Tabela 7 e 8).

Tabela 7 – Análise de variância para a variável calos (CAL), verificando as interações entre os níveis dos fatores Origem x Estufim.

| | CAL |
|----------------------------|---------|
| | p-valor |
| Origem: Sem Estufim | <0,001* |
| Origem: Com Estufim | 0,297 |
| Estufim: Origem Testemunha | 0,018* |
| Estufim: Origem Apical | 0,556 |

*significativo ao nível de significância de 5%.

Tabela 8 – Desdobramento das interações significativas por meio do teste de *Tukey* ao nível de significância de 5%, para a variável calos. Verificando a resposta da porcentagem de calos em miniestacas com base na origem da minicepa e o uso do estufim.

| Origem | Estufim | |
|------------|-------------------|-------------------|
| | Ausente | Presente |
| Testemunha | 22% ^{bB} | 34% ^{aA} |
| Apical | 42% ^{aA} | 39% ^{aA} |

*Médias seguidas da mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem entre si. As letras minúsculas na horizontal referente a interação de cada nível do fator Origem dentro dos níveis do fator Estufim. As letras maiúsculas na vertical correspondem a cada nível do fator Estufim dentro dos níveis do fator Origem.

Considerando que quanto menor a quantidade de calos melhor o aproveitamento das miniestacas, o resultado mais promissor encontrado foi para as minicepas sem estufim originadas da testemunha, apresentando 22% de calos. Minicepas apicais tiveram os maiores percentuais para presença de calos. A formação do calo é vinculada à concentração endógena de auxina nas plantas, processo favorecido pela degradação de auxinas na porção basal do propágulo (OLIVEIRA, 2016). Vale lembrar que a auxina é o principal hormônio responsável pela formação de raízes adventícias em partes vegetativas, como folhas ou caules (TAIZ & ZEIGER, 2013).

A utilização do estufim não minimizou a incidência de calos no presente estudo, contrapondo resultados de Assis (2011) e Rocha (2019) com estufins, em quais afirmam que a estrutura pode reduzir a formação de calos. Pode-se supor que os resultados obtidos são em resposta às temperaturas excessivas para as plantas, que podem desnaturar enzimas, modificar o metabolismo da muda, diminuir a absorção de nutrientes, propiciando a formação de calos (HARTMANN et al., 2011).

A análise de variância para interação Tipo x Estufim (Tabela 9 e 10) indicou que os resultados foram significativos para a ausência do estufim e para o tipo destaque.

Tabela 9 – Análise de variância para a variável calos (CAL), verificando as interações entre os níveis dos fatores Tipo x Estufim.

| | CAL |
|------------------------|---------|
| | p-valor |
| Tipo: Sem Estufim | <0,001* |
| Tipo: Com Estufim | 0,129 |
| Estufim: Tipo Padrão | 0,082 |
| Estufim: Tipo Destaque | <0,001* |

*significativo ao nível de significância de 5%.

Com o desdobramento da interação, os resultados para porcentagem evidenciaram que as minicepas destaque na ausência de estufim são mais favoráveis ao enraizamento, com menor índice de calos, 23%. As duas interações com o fator estufim demonstraram que as matrizes conduzidas dentro do estufim tenderam ao desenvolvimento de maior quantidade de calos.

Tabela 10 – Desdobramento das interações significativas por meio do teste de *Tukey* ao nível de significância de 5%, para a variável calos. Verificando a resposta da porcentagem de calos em miniestacas com base no tipo da minicepa e o uso do estufim.

| Tipo | Estufim | |
|----------|-------------------|-------------------|
| | Ausente | Presente |
| Padrão | 42% ^{aA} | 33% ^{aA} |
| Destaque | 23% ^{bB} | 41% ^{aA} |

*Médias seguidas da mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem entre si. As letras minúsculas na horizontal referente a interação de cada nível do fator Tipo dentro dos níveis do fator Estufim. As letras maiúsculas na vertical correspondem a cada nível do fator Estufim dentro dos níveis do fator Tipo.

A melhor adaptabilidade as condições ambientais das minicepas do tipo destaque podem explicar a porcentagem de calos reduzida (23%), visto que elas são oriundas de mudas mais altas (>5 cm) e tiveram uma resposta menor ao estresse. Nesse contexto, o balanço hormonal endógeno entre citocininas/auxinas, ácido abscísico, influencia no desenvolvimento de calos na região basal das miniestacas, e é acentuado pelo estresse (HARTMANN, 2002).

4.2.5 Altura e massa seca da raiz das miniestacas

Em resposta as interações Origem x Tipo, a altura demonstrou diferenças estatísticas para o tipo padrão, a origem testemunha e apical (Tabela 11).

Tabela 11 – Análise de variância para a variável altura (ALT), verificando as interações entre os níveis dos fatores Origem x Tipo.

| | ALT |
|-------------------------|----------|
| | p-valor |
| Origem: Tipo Padrão | <0,001 * |
| Origem: Tipo Destaque | 0,258 |
| Tipo: Origem Testemunha | 0,019* |
| Tipo: Origem Apical | 0,009* |

*significativo ao nível de significância de 5%.

Na análise de desdobramento com o teste de *Tukey* (Tabela 12), a altura para minicepas testemunha do tipo padrão se destacou em relação aos outros tratamentos, com a maior média encontrada para a variável (8,80 cm). Em contrapartida, a altura das miniestacas das matrizes de origem apical obteve o menor desempenho, entre 6 à 15% abaixo do valor mais alto.

Tabela 12 – Desdobramento das interações significativas por meio do teste de *Tukey* ao nível de significância de 5%, para a variável altura (cm). Verificando a resposta da porcentagem de calos em miniestacas com base na origem e tipo da minicepa.

| Origem | Tipo | |
|------------|--------------------|--------------------|
| | Padrão | Destaque |
| Testemunha | 8,80 ^{aA} | 8,09 ^{bA} |
| Apical | 7,65 ^{bB} | 8,44 ^{aA} |

*Médias seguidas da mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem entre si. As letras minúsculas na horizontal referente a interação de cada nível do fator Origem dentro dos níveis do fator Tipo. As letras maiúsculas na vertical correspondem a cada nível do fator Tipo dentro dos níveis do fator Origem.

Miniestacas originadas da testemunha tiveram melhores resultados para a variável altura. Podendo está relacionado ao vigor fisiológico das mudas que deram origem a minicepa, ocasionada pela quantidade de folhas e grau de juvenildade da testemunha em relação a apical. Predisposição que contribui para minimizar o estresse e menor susceptibilidade as variações ambientais.

A massa seca da raiz (g) não obteve diferença estatística dos fatores estudados. Porém, houve efeito de interação significativo para a ausência do estufim e origem para o nível testemunha (Tabela 13 e 14).

Tabela 13 – Análise de variância para a variável massa seca da raiz (MS), verificando as interações entre os níveis dos fatores Origem x Estufim.

| | MS |
|----------------------------|---------|
| | p-valor |
| Origem: Sem Estufim | 0 * |
| Origem: Com Estufim | 0,449 |
| Estufim: Origem Testemunha | <0,001* |
| Estufim: Origem Apical | 0,995 |

*significativo ao nível de significância de 5%.

Tabela 14 – Desdobramento das interações significativas por meio do teste de *Tukey* ao nível de significância de 5%, para a variável massa seca da raiz (g). Verificando a resposta da porcentagem de calos em miniestacas com base na origem e tipo da minicepa.

| Origem | Estufim | |
|------------|--------------------|--------------------|
| | Ausente | Presente |
| Testemunha | 0,08 ^{bB} | 0,11 ^{aA} |
| Apical | 0,12 ^{aA} | 0,12 ^{aA} |

*Médias seguidas da mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem entre si. As letras minúsculas na horizontal referente a interação de cada nível do fator Origem dentro dos níveis do fator Estufim. As letras maiúsculas na vertical correspondem a cada nível do fator Estufim dentro dos níveis do fator Origem.

A média da massa seca da raiz obteve valor baixo para miniestacas provindas de minicepas testemunha, sem o uso do estufim (0,08 g). Apesar dessa interação ter apresentado o menor índice de calos, notamos que não há o favorecimento quanto ao desenvolvimento de maior massa de raiz. A resposta foi mais promissora para o nível apical em relação a testemunha, com ganho de 50%. Para as demais características verificamos que as médias são estatisticamente iguais.

Nesse cenário de baixo potencial para propagação vegetativa em clones, essa pesquisa possibilitou a aplicação de diferentes estratégias para avaliar a resposta do enraizamento a diferentes fontes de variação encontradas ao produzir mudas de eucalipto. Sendo possível a análise de outras variáveis

pertinentes ao processo de produção de mudas de qualidade, como exemplo a produtividade de miniestacas, taxa de calos. Como resultado do nosso estudo pudemos verificar a melhor abordagem para escolha do propágulo vegetativo, bem como estabelecer critérios para formação de minicepas mais produtivas e com alto potencial de enraizamento. Além disso, foi possível analisar os efeitos do estufim no minijardim clonal. Nota-se que os ganhos adquiridos em sua maioria foram através da interação encontradas entre os fatores, Origem, Tipo e Estufim. O que evidencia que melhores resultados estão relacionados aos efeitos conjunto das fontes de variação. Em geral, as estratégias abordadas podem ser selecionadas garantindo melhor aproveitamento e qualidade no processo de produção de mudas.

5. CONCLUSÕES

O alto potencial de enraizamento e redução dos calos das miniestacas apicais comprova seu maior rendimento na produção das mudas. Para a formação de minijardins de clones de baixo potencial vegetativo, em termos de produtividade, índice de calos e enraizamento, recomenda-se o uso de minicepas de origem convencional (a testemunha citada no presente trabalho), provenientes das mudas mais altas. Sem a utilização da estrutura do estufim nos canaletes.

REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E.A.V; MAFIA, R.G.; ASSIS, T.F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: Editora UFV, 2004. 442 p.
- ALMEIDA, F. D.; XAVIER, A.; DIAS, J. M. M.; PAIVA, H. N. Eficiência das auxinas (AIB e ANA) no enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus cloeziana* F. Muell. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 455-463, 2007.
- ALMEIDA, F.D. **Propagação vegetativa de *Eucalyptus cloeziana* F. Muell. por esquia e miniestaquia**. 2006. 86 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.
- ASSIS, T. F.; MAFIA, R. G. Hibridação e clonagem. In: BORÉM, A. (Ed.) **Biotecnologia Florestal**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2007. p. 93-121.
- ASSIS, T. F. Hybrids and mini-cutting: a powerful combination that has revolutionized the *Eucalyptus* clonal forestry. **BMC Proceedings**, n. 5 (Suppl 7), 2011.
- ASSIS, T.F.. **Melhoramento genético de *Eucalyptus*: desafios e perspectivas**. p. 1-13, 2014
- ASSIS, T.F.; REIS, C.A.F. Produção de mudas clonais de teca por estaquia. In: **Teca (*Tectona grandis* L. f.) no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 2023. 295-326 p.
- BATISTA, A. F.; SANTOS, G. A.; SILVA, L. D.; QUEVEDO, F. F.; ASSIS, T. F. The use of mini-tunnels and the effects of seasonality in the clonal propagation of *Eucalyptus* in a subtropical environment. **Australian Forestry**, v.78, n.2, p. 65-72, 2015.
- BENIN, C.C.; PERES, F.S.B.; GARCIA, F.A.O. Enraizamento de miniestacas apicais, intermediárias e basais em clones de *Eucalyptus benthamii*. **Floresta**, Curitiba, v. 43, n. 3, p. 421-428, 2013.
- BHERING, L.L. Rbio: A tool for biometric and statistical analysis using the R platform. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. v. 17, n. 2, p. 187 – 190, 2017.
- BORGES, S.R.; XAVIER, A. OLIVEIRA, L.S.; MELO, L.A.; ROSADO, A.M. Enraizamento de miniestacas de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 425-434, 2011.
- BOVOLINI, M. P.; LAZAROTTO, M.; GONZATTO, M. P.; SÁ, L. C. D.; BORGES JUNIOR, N. Preventive and curative control of *Oidium eucalypti* in *Eucalyptus benthamii* clonal seedlings. **Revista Árvore**, v. 42, n. 5, 2018.
- BRONDANI, G.E. **Miniestaquia e micropropagação de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage X *Eucalyptus dunnii* Maiden**. 2008. 130 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

CANGUÇU, V. S. **Sazonalidade e utilização de estufins na propagação clonal de eucalipto**. 2020. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2020.

FAGANELLO, L. R.; DRANSKI, J.A.L. Efeito dos Ácidos Indolbutírico e Naftalenoacético no enraizamento de estacas semilenhosas de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 25, n. 4, p. 863-871, 2015.

FERNANDES, S.J.O.; SANTANA, R.C.; SILVA, E.B.; SOUZA, M.P.; SILVA, C.T. Período de enraizamento de miniestacas de eucalipto provenientes de diferentes lâminas de irrigação em minijardim. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 28, n. 2, p. 591-600, 2018.

FERRARI, M. P.; GROSSI, F.; WENDLING, I. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2004. 22p.

FERREIRA, D.A.; BARROSO, D.G.; SILVA, M.P.S.; SOUZA, J.S.S.; FREITAS, T.A.S.; CARNEIRO, J.G.A. Influência da posição das miniestacas na qualidade de mudas de cedro australiano e no seu desempenho inicial no pós-plantio. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 22, n. 4, p. 715-723, 2012.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JÚNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation – principles and practices**. New York: Prentice-Hall International, 2011. 770 p.

IBÁ. Relatório IBÁ, 2023. Ano base 2022. 2023.

KRUGNER, T. L.; AUER, C. G. Doenças dos eucaliptos. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, JAM; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4.ed. São Paulo: Agronômica CERES, 2005. p. 319-332.

LIMA, A. L. D. S.; ZANELLA, F.; CASTRO, L. D. M. D. Growth of *Hymenaea courbaril* L. var. *stilbocarpa* (Hayne) Lee et Lang. and *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong (Leguminosae) under different shading levels. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 40, n.1, p. 43-48, 2010.

MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; SIQUEIRA, L.; FERREIRA, E. M.; LEITE, H. G.; CAVALLAZZI, J. R. P. Critério técnico para determinação da idade ótima de mudas de eucalipto para plantio. **Revista Árvore**, v. 29, n. 6, p. 947-953, 2005.

MARAVILHA, L.F; CANGUÇU, V.S.; TITON, M.; AZEVEDO, M.L. Dinâmica de enraizamento de miniestacas de eucalipto produzidas em minijardins com diferentes modelos de estufins. **Série Técnica IPEF**, Santa Maria, v. 26, n. 48, p. 263-267, 2023.

MARTINS, N.S. e SILVEIRA, R.L.V.A. Aperam realiza reunião técnica para apresentar novos clones de eucalipto. In: **Addubare**. RR Agroflorestal, Piracicaba, SP, jan-jun 2014. Disponível em: <rragroflorestal.com.br> Acesso em 27 de jun. 2020.

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

NOGUEIRA, R. D. **Produção de mudas clonais de eucalipto nos sistemas Ellepots e tubetes associada ao AIB**. 2023. 71 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 2023.

OLIVEIRA, A.S. **Propagação clonal de eucalipto em ambiente protegido por estufins: produção, ecofisiologia e modelagem do crescimento das miniestacas**. 2016. 79p. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2016.

OLIVEIRA, E.B.; PINTO JÚNIOR, J.E. **O eucalipto e a Embrapa : quatro décadas de pesquisa e desenvolvimento**. 21 ed. Brasília: Embrapa Florestas, 2021. 1160p.

OLIVEIRA, L. S.; XAVIER, A.; DIAS, P. C.; CORREIA, A. C. G.; BORGES, S. R.; TAKAHASHI, E. K.; PAIVA, H. N. Enraizamento de miniestacas e microestacas de clones de *Eucalyptus urophylla* x *E. globulus*. **Scientia Forestalis**, v. 40, n. 96, p. 507 - 516, 2012.

QUEIROZ, L.M.R. **Propagação clonal de eucalipto em ambiente protegido por estufins: produção, ecofisiologia e modelagem do crescimento das miniestacas**. 2014. 79p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

RESENDE, M. D. V.; PIRES, I. E.; SILVA, R. L. Melhoramento do eucalipto. In: LOPES, M. A.; FAVERO, A. P.; FERREIRA, M. A. J. F.; FALEIRO, F. G. (Ed). **Pré-melhoramento de plantas: estado da arte e experiências de sucesso**. Brasília, DF: Embrapa. 2011. p. 413-440.

ROCHA, F. M. **Utilização do estufim e do ácido indolbutírico na miniestaquia de um clone híbrido de *Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus pellita***. 2019. 93p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal Dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2019.

ROCHA, F.M.; TITON, M.; FER. Uso de estufim e de AIB para o enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake x *Eucalyptus pellita* F. Muell. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 32, n. 3, p. 1460-1478, 2022.

RUIZ, A. M. M. **Intensidade de sintomas de oídio em minijardim clonal de eucalipto sob diferentes ambientes de cultivo**. 2019. 96p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2019.

SILVA, M.P.. **Produção de miniestacas e desenvolvimento de mudas de eucalipto em diferentes concentrações salinas**. 2008. 87 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2008.

SOMAVILLA, L.M. **Produtividade de minicepas e enraizamento de miniestacas de eucalyptus spp. cultivadas em diferentes manejos de**

minijardim clonal. 2020. 79p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2020.

SOUZA JÚNIOR, L.; WENDLING, I. **Miniestaquia de *Eucalyptus dunnii* utilizando propágulos juvenis.** Colombo: Embrapa Florestas, 2005. 3 p. (Embrapa Florestas. Circular técnica, 108).

STUEPP, C.A.; WENDLING, I.; XAVIER, A.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C. Vegetative propagation and application of clonal forestry in Brazilian native tree species. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 53, n. 9, p. 985-1002, 2022.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** 3. ed. São Paulo: Limed, 2004. 719 p.

TITON, M. **Propagação clonal de *Eucalyptus grandis* por miniestaquia e microestaquia.** 2001. 65 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

TITON, M.; XAVIER, A.; OTONI, W.C. Dinâmica do enraizamento de microestacas e miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v. 26, n. 6, p. 665-673, 2002.

TORRES, A.G.M. **Relação entre sazonalidade, desrama e carboidratos no crescimento do eucalipto na propagação vegetativo por miniestaquia.** 2003. 65 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba 2003.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F.; GABIA, M.M; VIEIRA, L.M.; DEGENHARDT, J. **Produção de mudas de eucalipto por sementes.** 2 ed. Brasília: Embrapa Florestas, 2017. 192p.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Gradiente de maturação e rejuvenescimento aplicado em espécies florestais. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n. 1, p. 187-194, 2001.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Influência da miniestaquia seriada no vigor radicular de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v. 29, n. 5, p. 681 - 689, 2005.

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

XAVIER, A.; WENDLING, I.; DA SILVA, R. L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas.** Viçosa, MG: Editora UFV, 2009. 272 p.