

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Otimização da produção de mudas clonais de eucalipto com o
uso de bioestimulantes**

Gabriela Ferraz Leone

Tese apresentada para obtenção do
título de Doutora em Ciências. Área de
concentração: Fisiologia e Bioquímica
de Plantas

**Piracicaba
2019**

Gabriela Ferraz Leone
Bióloga

**Otimização da produção de mudas clonais de eucalipto com o uso de
bioestimulantes**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **MARCÍLIO DE ALMEIDA**

Tese apresentada para obtenção do
título de Doutora em Ciências. Área
de concentração: Fisiologia e
Bioquímica de Plantas

Piracicaba
2019

RESUMO

Otimização da produção de mudas clonais de eucalipto com o uso de bioestimulantes

Devido à grande importância que o gênero *Eucalyptus* apresenta, cada vez mais estudos relacionados à otimização da propagação de espécies do gênero vêm sendo conduzidos. Os principais entraves estão relacionados à sua clonagem e a recalcitrância que algumas espécies apresentam ao enraizamento e, por essa razão, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o uso de bioestimulantes na mini e microestaquia de *Eucalyptus* spp. O presente trabalho se preocupou com o desenvolvimento de protocolos que não alteram excessivamente a prática empregada pelas empresas silviculturais. Para tanto, o trabalho foi dividido em 4 partes, sendo a primeira composta por uma revisão sobre enraizamento (item 2), visando elucidar todos os principais fatores que podem influenciar neste evento morfogênico. A partir desta revisão, se iniciaram estudos práticos com espécies e híbridos do gênero. O primeiro estudo (item 3) baseou-se na avaliação da morfofisiologia de miniestacas de três espécies de eucalipto (*E. urograndis*, *E. benthamii* e *E. urophylla*) em contato com AIB em pó e subsequente aplicação de tratamentos com bioestimulantes (ácido tânico e Algaren BZn[®]) utilizados de forma isolada e/ou em associação diretamente na base das miniestacas. O segundo estudo (item 4) avaliou a atuação destes mesmos tratamentos com bioestimulantes, em microcepas de *Eucalyptus urograndis* em fase de alongamento *in vitro* das brotações e sua posterior aclimatização. Por fim, o terceiro estudo (item 5) foi baseado na utilização dos tratamentos com bioestimulantes em microestacas de *E. urophylla* em fase de aclimatização em miniestufas, sendo os bioestimulantes aplicados na base das microestacas e na base das miniestufas (diretamente na bandeja). Em todos os experimentos foram coletados dados referentes aos parâmetros morfofisiológicos e, observou-se no primeiro e segundo experimento, que o ácido tânico na concentração de 250mg/L, foi o melhor tratamento empregado. Já, para o terceiro experimento, o Algaren BZn[®] na concentração de 1ml/L, apresentou resultados mais favoráveis. De acordo com as análises histológicas da rizogênese para todos os experimentos, verificou-se que as raízes adventícias desenvolvidas apresentaram origem cambial e conexão direta com o sistema vascular da parte aérea, indicando serem funcionais. O que permitiu constatar que, de forma geral, a adição de bioestimulantes otimizou a produção de mudas clonais de *Eucalyptus*.

Palavras-chave: *Eucalyptus* spp.; Ácido tânico; Extrato de alga; Rizogênese

ABSTRACT

The optimization to producing eucalyptus clones with biostimulants

According to the great importance that *Eucalyptus* genus presents, more studies are related to genus species propagation optimization have been conducted. Being the rooting recalcitrance that some species presents the main obstacle related to its cloning, this work had the aim to evaluate the biostimulants use in mini and microcuttings rooting process of *Eucalyptus* spp. For this, the present work was concerned with the protocols development that does not excessively alter the practice employed by silvicultural business. For this, the work was divided into 4 parts, the first have a rooting review (item 2), in order to elucidate all the main factors that may influence this morphogenic event. From this review, practical studies with species and hybrids of the genus were started. The first study (item 3) was based on the minicuttings morphology evaluation of the three eucalyptus species (*E. urograndis*, *E. benthamii* and *E. urophylla*) in contact with IBA in talc and the subsequent application of biostimulant treatments (tannic acid and Algaren BZn[®]) used in isolation and/or in combination directly on minicuttings base. The second study (item 4) evaluated the performance of these same treatments with biostimulants in *E. urograndis* microcuttings on the shoots elongation stage in vitro and their subsequent acclimatization. Finally, the third study (item 5) was based on the biostimulant treatments use in *E. urophylla* microcuttings in acclimatization phase in ministuff. The biostimulants were applied at microcuttings base and at ministuff base (directly on the trays). In all experiments, data regarding morphophysiological parameters were collected and it was observed in the first and second experiments that tannic acid at 250mg/L concentration was the best treatment used. For the third experiment, the Algaren BZn[®] in the concentration of 1 ml/L, presented more favorable results. According to the rhizogenesis histological analyzes for all the experiments, it was verified that the adventitious roots developed presented cambial origin and had a direct vascular connection with the aerial part, indicating its functionality. This showed that, in general, the biostimulants addition optimized the production of clonal *Eucalyptus* seedlings.

Keywords: *Eucalyptus* spp.; Tannic acid; Seaweed extract; Rhizogenesis

1 INTRODUÇÃO

Quando se pensa em floresta brasileira, a bacia Amazônica é a primeira que vem em mente, no entanto, a região não é o principal componente do setor florestal no Brasil. A silvicultura é amplamente aplicada no país, principalmente como indicadora de desenvolvimento econômico, referente à disponibilidade de energia, transporte, geração de empregos com mão-de-obra qualificada ou não, além de mercados de produtos florestais (McNabb 2004).

Dos 7,84 milhões de hectares de árvores plantadas no Brasil, 70% são compostas por eucalipto, pertencente à família Myrtaceae que apresenta cerca de 600 espécies e subespécies distribuídas essencialmente nos estados de Minas Gerais, São Paulo e Mato Grosso do Sul (IBÁ 2017; Ferraz Filho et al. 2018), sendo também cultivadas em menores proporções, nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Espírito Santo, Bahia, Goiás, Mato Grosso, Tocantins, Piauí, Pará e Maranhão (IBÁ 2017) e sua plasticidade lhe confere excepcional dispersão mundial.

O cultivo do eucalipto para fins comerciais tem grande destaque no cenário econômico, por ser o biocombustível sólido mais utilizado e com maior potencial de crescimento em função da qualidade da madeira com sustentabilidade.

De acordo com Teixeira et al. (2009) seu uso minimiza o desmatamento e o extrativismo de espécies nativas utilizadas por muitas décadas, como fornecedoras de produtos de madeira sólida. Seu cultivo resulta também na fabricação de papel e celulose, essências florestais, além de sua efetiva aplicação na indústria moveleira e construção civil. A demanda de seus produtos no mercado é muito grande, despertando investimentos em pesquisas voltadas à maximização do cultivo, cujo principal objetivo é o desenvolvimento de clones adaptados aos mais diferentes ambientes.

Introduzido no Brasil no início do século XIX, o eucalipto, originário da Austrália e ilhas próximas, teve seu primeiro plantio no Jardim Botânico do Rio de Janeiro, em 1825. No entanto, as pesquisas realizadas com o gênero tiveram início

somente no princípio do século XX quando Edmundo Navarro de Andrade implantou diversos hortos florestais da Companhia Paulista de Estradas de Ferro por todo o Estado de São Paulo, sendo o de Rio Claro o mais conhecido até os dias atuais (Pereira et al. 2000). Rapidamente, despertou-se o interesse comercial, tendo em vista que as espécies do gênero apresentam rápido crescimento, podendo ser cultivadas em diferentes solos, climas e altitudes, além da eventual resistência ao fogo e variações edafoclimáticas (Zanuncio et al. 1998; Campoe et al. 2012; Bui et al. 2016; Nakhooda; Jain 2016).

No Brasil, o gênero *Eucalyptus* se apresenta como uma importante matriz do agronegócio. A Indústria Brasileira de Árvores (IBÁ), associação responsável pela representação institucional da cadeia produtiva de árvores plantadas, do campo à indústria, reúne empresas e associações estaduais do setor e seus diversos segmentos de atuação, sendo que, de acordo com seu relatório do ano-base de 2017, existem 50 empresas produtoras vinculadas e cadastradas; 9 associações estaduais distribuídas ao longo do território brasileiro e 5 empresas colaboradoras (IBÁ 2017).

Quando se trata de pesquisas com o tema “eucalipto” por todo o mundo, encontram-se mais de 20 mil publicações na base de dados web of Science, sendo que deste total, apenas 13 são de 1904 a 1919, período em que as pesquisas com o gênero foram iniciadas no Brasil; no período de 1920 a 1950, 68 pesquisas foram publicadas. Um volume maior de publicações ocorreu nos anos de 1960, representando 119 artigos publicados apenas nesta década. No período das décadas de 1970 a 1990, houve um total de 4.231 publicações. E, a partir de 2000 até o ano atual, já foram publicados 17.670 artigos sobre o tema. Sendo que deste total, 1.257 artigos científicos foram publicados em língua portuguesa, tendo em vista que grande parte dos pesquisadores brasileiros não publica em sua língua-mãe, este é um número bem consistente para demonstrar o quanto o tema é envolvido em pesquisas no país.

Enfatizando sua importância, a maior empresa produtora de papel e celulose do mundo, foi fundada no Brasil há 94 anos por Leon Feffer, a Suzano Papel e Celulose, que hoje está nas mãos da terceira geração da família, contando atualmente com a

colaboração direta de 8.066 profissionais, além da parceria com 11.108 terceirizados, contribuindo para a geração de empregos indiretos pela dinamização das atividades econômicas nas regiões de atuação (Plano de Manejo Florestal 2016). Não obstante, no ano de 2018, a empresa se uniu à sua maior concorrente, a Fibria, criando uma gigante do setor, com produção total de 11 milhões de toneladas e, tornando-se a quinta maior companhia em valor de mercado brasileiro, ficando atrás apenas da Petrobrás, Ambev, Vale e Telefônica (Scaramuzzo 2018).

No entanto, apesar de todas as vantagens que o gênero *Eucalyptus* apresenta, algumas dificuldades pontuais contribuem para a queda da produção, com destaque ao acometimento de insetos, pertencentes às ordens: lepidóptera, coleóptera e principalmente, himenóptera, que agrupa as formigas cortadeiras consideradas as principais pragas que atacam as florestas plantadas de forma intensa em todas as épocas do ano, e em qualquer fase de seu desenvolvimento, cujo ataque pode acarretar na desfolha total, resultando, inúmeras vezes, na morte da planta (Matrangolo et al. 2010). O problema referente à presença de formigas no cultivo do eucalipto, é tão sério que Marinho et. al (2002) relataram que existe maior biodiversidade de espécies de formigas em plantios de eucalipto, do que em áreas de matas nativas.

Outro problema bastante comum enfrentado na produção de eucaliptos é o ataque de patógenos, principalmente fungos, observados desde a fase de viveiro até os plantios adultos nos mais variados locais, espécies e épocas do ano. Dentre eles são destacados: *Oidium* sp., *Cylindrocladium candelabrum* Viégas, *Fusarium* sp., *Phytophthora* sp., *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani* (responsáveis pelo tombamento de mudas) e *Cryphonectria cubensis* (causador do cancro), além da *Ralstonia solanacearum* (responsável pela murcha-bacteriana) (Santos; Auer; Grigoletti Jr 2001; Souza et al. 2010; Mafia et al. 2012).

Tanto no Brasil como em todo o mundo, florestas plantadas e nativas estão sujeitas a incêndios, responsáveis pelos maiores danos florestais, gerando perdas ambientais, econômicas, sociais e humanas (Santos; Soares; Batista 2006; Parizotto et

al. 2008). Para controlar esse infortúnio, o uso de retardante do fogo é uma alternativa viável que evita grandes perdas, sendo esta, uma estratégia eficaz aplicada por inúmeros produtores (Canzian et al. 2016).

Ainda relatando as dificuldades de cultivo do eucalipto e demais florestas plantadas, ressaltamos as geadas constantemente enfrentadas, tanto no sul do Brasil, como em outras regiões frias do mundo, tornando-se um fator limitante para a produção, pois se as plantas forem expostas por um período de cinco dias ao frio intenso, poderão sofrer danos severos, como queda das folhas, necrose do ponteiro apical ou até morte da planta. As plantas que apresentam resistência a geadas exibem mecanismos de prevenção e tolerância, em condições de temperaturas abaixo de 0°C, o metabolismo celular é afetado, reduzindo ao mínimo as funções fisiológicas mais importantes (Higa et al. 2000). Além disso, a falta de opções de espécies de *Eucalyptus* que sejam tolerantes a este evento da natureza, acarreta em limitações da expansão do cultivo do gênero no Sul do Brasil, sendo as espécies *E. benthamii* e *E. dunnii* alternativas potenciais para o empreendedor florestal nesses casos (Brondani et al. 2009).

Outro exemplo de fatores adversos aos quais os eucaliptos podem ser submetidos, são secas severas que, de acordo com Valdés et al. (2013), quando as árvores percebem o déficit hídrico ativam múltiplas respostas para sincronizar seu desenvolvimento e suas atividades moleculares, visando garantir sua sobrevivência (Santos; Schumacher 2016).

O processo de implantação de florestas de eucalipto se inicia com a propagação de mudas e, a qualidade e sanidade destas são fundamentais para o sucesso e desenvolvimento de indivíduos com alta produtividade. Como se não bastassem os problemas abordados, nos deparamos, nesta fase, com um gargalo no cultivo do gênero que, apesar de sua ampla plasticidade, muitas espécies, ou clones, apresentam diferentes formas de desenvolvimento, necessidades nutricionais específicas, seletividade quanto à aeração do substrato, disponibilidade de água e distintos manejos (Higashi; Silveira; Gonçalves 2000).

A produção de mudas de eucalipto é realizada essencialmente via reprodução sexuada ou seminal, gerando indivíduos com acentuada variabilidade genética. A produção pode se dar também por propagação clonal resultando em propágulos vindos da planta matriz. Este último método conserva o mesmo material genético da planta original, razão pela qual os novos indivíduos são designados *clones* (Almeida 2012; Baccarin 2012), mesmo que se considere as constantes variações epigenéticas (Higashi; Silveira; Gonçalves 2000).

A obtenção de mudas via propagação clonal oferece vantagens significativas, ponderando que é possível multiplicar maciçamente genótipos superiores previamente selecionados de populações naturais oferecendo maior eficiência no manejo florestal, além de melhor utilização do produto final (Hartmann et al. 2002; de Almeida et al. 2015). Com esse objetivo e visando maximizar a produção de mudas, de acordo com interesses economicamente específicos, matrizes são selecionadas para programas clássicos de melhoramento, auxiliando assim, na garantia da superioridade e homogeneidade das plantas (Baccarin 2012).

Dentre os métodos de obtenção de mudas aplicados na propagação do eucalipto, a estaquia é realizada a partir do enraizamento de estacas caulinares, sendo um dos métodos pioneiros de propagação clonal. No entanto, muitas vezes o uso desta técnica não é o mais indicado, pois, como descreve Brondani (2012), os problemas relacionados ao enraizamento são mais frequentes neste tipo de propagação clonal, observados principalmente em árvores adultas devido à alta produção de produtos considerados inibidores do enraizamento que, podem ser solucionados pelo uso de técnicas como mini e microestaquia.

A miniestaquia é similar à técnica de estaquia convencional, no entanto, algumas metodologias distintas permitem melhorar a qualidade da muda e seu respectivo enraizamento. Após a formação do minijardim clonal, composto de minicepas cujo ápice da brotação é podado emitindo novas brotações que poderão ser coletadas para utilização como miniestacas. No caso da microestaquia, utiliza-se microcepas oriundas de propagação *in vitro* que, por terem sido submetidas aos

processos de micropropagação, apresentam maior grau de juvenilidade em comparação às minicepas (Xavier; Silva 2010). Em função disso, o *Eucalyptus* é o gênero florestal que mais possui estudos relacionados com a micropropagação (Dutra; Wendling; Brondani 2009), técnica *in vitro* que permite alta taxa de multiplicação, possibilitando clonagem de espécies e híbridos de alto valor e difícil enraizamento (Ratniekes; Assis 1993; Xavier; Silva 2010).

Dada a necessidade e importância das raízes para o desenvolvimento normal do propágulo, o enraizamento adventício consiste em um passo essencial para o sucesso destas técnicas, uma vez que, obviamente o propágulo necessita da existência deste órgão para continuar seu desenvolvimento, tendo em vista que as raízes podem ser induzidas artificialmente por vários métodos, no processo de propagação clonal, tais como estaquia convencional, miniestaquia e microestaquia.

Todavia, em qualquer um desses métodos de clonagem abordados, tanto para fins comerciais, como em programas de melhoramento genético, as dificuldades de enraizamento são enfrentadas, em função da recalcitrância às vias morfogênicas de rizogênese, ou seja, ampla dificuldade ao enraizamento, como reportado na década de 1990 por Assis (1997), onde o autor salientou que, a redução gradual do potencial de enraizamento do eucalipto pode estar envolvida com o envelhecimento ontogênico das matrizes selecionadas. Os autores de Almeida et al. (2017) reforçam as observações de Assis (1997) salientando que a propagação clonal de espécies lenhosas apresenta grande limitação em comparação com espécies herbáceas, por serem recalcitrantes à rizogênese.

A variação na capacidade de enraizamento existente, não somente entre as espécies, mas também, entre clones da mesma matriz de eucalipto, sendo então, um grande inconveniente no cultivo do gênero (Ferreira et al. 2004).

O enraizamento e a qualidade do sistema radicular garantem que a muda se desenvolva de maneira satisfatória até que seja levada ao campo. Entretanto, microestacas, ou seja, plantas que foram micropropagadas e aclimatizadas em situação *ex vitro*, acarretam alguns problemas de ordem prática e financeira,

considerando a expressiva fragilidade do sistema radicular do jovem clone, sendo a transferência da planta para as condições *ex vitro*, uma prática bastante lenta e conseqüentemente, onerosa. Essas observações se pautam em função da necessidade da total retirada do ágar que envolve o sistema radicular, pois além de injúrias que podem eventualmente ocorrer, o resto de ágar potencializará a contaminação do substrato, acarretando na perda da muda.

Uma das grandes limitações da micropropagação é o alto investimento em instalações e manutenção de um laboratório, resultando em aumento do custo de produção das mudas e também, na necessidade de desenvolvimento de protocolos específicos para diferentes espécies ou clones, bem como a recalcitrância de espécies lenhosas à propagação *in vitro* e seu posterior enraizamento *ex vitro* (Xavier; Otoni; Penchel 2007; Dutra; Wendling; Brondani 2009). Trabalhos como de Brondani et al. (2012); Baccarin et al. (2015) e Oliveira et al. (2015) mostram a importância e a necessidade do desenvolvimento destes protocolos para o sucesso na aclimatização *ex vitro*, bem como na produção de mudas de *Eucalyptus*.

O enraizamento adventício é a chave para a obtenção de sucesso nas técnicas de clonagem seja *in vivo* e/ou *in vitro* de espécies florestais, principalmente do gênero *Eucalyptus*. Considera-se que o processo de enraizamento pode ser dividido em três fases: indução, formação e expressão. A primeira relaciona-se a eventos bioquímicos e moleculares em células indiferenciadas, ao passo que a formação radicular é caracterizada por divisões celulares, organização dos primórdios radiculares e seu crescimento. Já, a fase de expressão é caracterizada pelo desenvolvimento dos primórdios radiculares e sua emergência (Li et al. 2009). Diferentemente das raízes típicas, que possuem origem embrionária, as raízes adventícias têm origem bastante diversificada, uma vez que se desenvolvem a partir de caules, folhas e outros órgãos da planta que não sejam a própria raiz e, portanto, podem ter origem em diferentes tipos celulares, de acordo com o tecido no qual elas são diferenciadas (Almeida; Almeida 2014; Bellini; Pacurar; Perrone 2014).

Estudos têm demonstrado que o enraizamento adventício, além de ser controlado por fatores genéticos, é fortemente influenciado por estímulos ambientais, dentre os quais se destacam a luz, temperatura, nutrição, auxinas e a interação com microrganismos, a qual vem sendo amplamente estudada, principalmente no que se refere à resistência vegetal a possíveis patógenos. Todas as plantas são hospedeiras de comunidades microbianas em sua superfície (microrganismos epifíticos) e no interior de órgãos, tecidos e células (endófitos e endosimbiontes) (Almeida et al. 2009; Guttman; McHardy; Schulze-Lefert 2014).

Andreote (2007) relatou que existem bactérias cujas associações são benéficas às plantas, incluindo desde os íntimos simbioses, como rizóbios, até as espécies saprofíticas de vida livre, que proporcionam o aumento da disponibilidade de nutrientes, como também podem atuar suprimindo o desenvolvimento de potenciais fitopatógenos. O autor reforça ainda que, muitas destas bactérias podem produzir auxinas, etileno, citocininas, vitaminas e outras substâncias diretamente envolvidas com o desenvolvimento vegetal, podendo atuar positivamente sobre a produtividade no campo.

As plantas podem recrutar membros da comunidade microbiana do solo para *feedbacks* positivos, porém, os mecanismos e características do vegetal que guiarão a montagem e a função exercida pelo microbioma são, ainda em parte, desconhecidos (Pérez-Jaramillo; Mendes; Raaijmakers 2015).

No solo existem regiões que sofrem maior influência da atividade microbiana, como é o caso da rizosfera, definida por Hiltner (1904) como a região ao redor das raízes, geralmente com 1 a 3 mm, onde há crescimento bacteriano e pode variar de acordo com fatores relacionados ao solo, espécie vegetal e sua idade (Campbell; Greaves 1990). Cook et al. (1995) postularam que as plantas podem modular o microbioma da rizosfera em benefício próprio, estimulando seletivamente microrganismos que sejam favoráveis para seu crescimento e desenvolvimento. No entanto, a partir de 2007, Cardoso e Nogueira, estabeleceram a rizosfera como “a região do solo que recebe influência direta das raízes, possibilitando proliferação

microbiana”. Açúcares e aminoácidos são exsudados pelas plantas, formando um ambiente muito dinâmico e competitivo, tornando-se assim, propício ao desenvolvimento microbiano. Acrescenta-se ainda que, estes exsudados que determinam o tipo da comunidade microbiana na rizosfera, sugere-se que plantas diferentes tenham seleção de microrganismos da rizosfera distintas, responsáveis por suprir da melhor forma possível seu desenvolvimento, o que possivelmente ocorra devido à diferenciação existente entre exsudados radiculares para cada espécie, a interação existente entre bactérias e plantas hospedeiras, é, portanto, específica e complexa e, desta forma, os exsudados de raízes podem surgir resultando uma indução da expressão gênica bacteriana (Taghavi et al. 2010; Mendes et al, 2011; Lundberg et al. 2012). Considerando-se que esses exsudatos determinam o tipo da comunidade microbiana na rizosfera, pondera-se que plantas diferentes tenham seleção de microrganismos distintos, responsáveis por suprir, da melhor forma possível, seu desenvolvimento (Mendes et al. 2011), modificando fisiológica e bioquimicamente as células vegetais (Batagin-Piotto 2013).

Além da interação microbiana com a planta, podem atuar sobre o fenômeno morfogênico, os reguladores de crescimento vegetais, cujo papel é fundamental para a rizogênese podendo atuar de formas distintas de acordo com a espécie (Lakshmanan; Selvaraj; Bais 2014), sejam eles endógenos ou exógenos. Dentre os compostos endógenos que apresentam atividade auxínica e comercialmente disponíveis, destacam-se o ácido indolacético (AIA) e o ácido indolbutírico (AIB), os quais são amplamente utilizados na indução de raízes adventícias nos sistemas de propagação assexuada *in vivo* e/ou *in vitro* (Ludwig-Müller 2000; Marchioro 2005; Li et al. 2009). Sua aplicação proporciona maior porcentagem, velocidade, qualidade e uniformidade de enraizamento (Hartmann et al. 2002). Existem trabalhos que descrevem o uso destes reguladores de crescimento com substâncias como compostos fenólicos (Curir et al. 1990; Prado 2014), bem como a combinação dos micronutrientes zinco e boro, sendo que as funções mais conhecidas do zinco nas plantas são: participação na síntese do AIA (ácido indolacético) importante para o

RNA, pois inibe a RNase que hidrolisa o RNA; redução do nitrato a nitrito, oxidases e outras (Malavolta; Vitti; Oliveira 1997) e, na célula vegetal, o boro participa da divisão celular, aumento no tamanho das células, transporte de carboidratos da folha para outros órgãos (Malavolta 1980) e atua como agente morfogenético (Spurr 1957).

A importância de compostos fenólicos, oriundos do metabolismo secundário das plantas durante o processo de enraizamento foi constatada em trabalhos clássicos, como as pesquisas desenvolvidas por Bartolini; Tattini (1986) e Curir et al. (1990), os quais mostram que sua associação com auxinas, favorecem este evento morfogênico. A biossíntese dos compostos fenólicos ocorre a partir de diferentes rotas e, de acordo com Taiz; Zeiger (2009), esta é a razão pela qual este é um grupo tão heterogêneo metabolicamente. Os produtos fenólicos vêm sendo utilizados principalmente por sua ação antipatogênica além de atuar como reguladores de crescimento (Almeida 1999) e, quando aplicado em plântulas de *Eucalyptus grandis in vitro*, favoreceu o enraizamento e o sistema aéreo destas (Lima 1998).

Outros produtos utilizados visando à otimização do cultivo de espécies vegetais de interesse comercial, tais como feijão, soja, milho e trigo, são os extratos de algas, aplicados como fertilizantes e bioestimulantes. Os resultados obtidos com esses produtos demonstram melhoria na germinação, no estabelecimento da plântula além de aperfeiçoar o sistema radicular, refletindo no estabelecimento em campo e na produtividade vegetal (Carvalho; Castro 2014; Araújo 2016).

É importante reforçar que um sistema radicular adventício bem formado, exibindo uma arquitetura o mais próximo possível ao sistema radicular típico, é fundamental, porém, a funcionalidade desse sistema para que a planta formada apresente um bom desenvolvimento é essencial. Por exemplo, raízes que tem origem de calos (presença frequente em estacas de eucalipto) podem ocasionar no tombamento da muda pela fragilidade de fixação da planta ao solo, além de gerar um déficit de transporte orgânico e inorgânico por não ter uma conexão vascular direta das raízes adventícias com a base da estaca, portanto, é imprescindível que as raízes adventícias formadas, sejam provenientes do câmbio da base da estaca. Não

obstante, também é indispensável uma perfeita conexão vascular entre raiz adventícia e estaca, de maneira a permitir uma eficiente via xilemática e floemática entre os sistemas aéreo e radicular, garantindo o bom desenvolvimento da nova planta.

Em função de sua importância e visando a otimização da produção de clones de eucaliptos com genótipos superiores o objetivo deste trabalho foi determinar protocolos de enraizamento de mini e microestacas de *Eucalyptus*, por meio da aplicação de bioestimulantes, ácido tânico e Algaren BZn® (extrato da alga *Ecklonia máxima* suplementado com os micronutrientes Boro e Zinco). A escolha desses produtos foi pautada nos resultados obtidos em pesquisas realizadas com extratos de alga e a atividade do ácido tânico sobre o enraizamento de angico do cerrado, trabalhos realizados respectivamente, por (Carvalho; Castro 2014; Araújo 2016; Almeida 1999).

REFERÊNCIAS

- Almeida CV (1999) Atuação do ácido tânico na nodulação e no desenvolvimento de *Anadenanthera falcata* (Benth.) Speg. - Mimosoideae. 1999. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas, área de Biologia Vegetal) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro/SP, 91p.
- Almeida CV, Andreote FD, Yara R, Tanaka FAO, Azevedo JL, Almeida M (2009) Bacteriosomes in axenic plants: endophytes as stable endosymbionts. *World J Microbiol Biotechnol.* 25:1757-1764
- Almeida LV (2012) Técnicas para otimização da multiplicação *in vitro* de brotações de *Eucalyptus citriodora* (Hook) K.D.Hill & L.A.S.Johnson. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 107p.
- Almeida M, Almeida CV (2014) Morfologia da raiz de plantas com sementes. Piracicaba: ESALQ/USP, 71p. Disponível em: <http://www.producao.usp.br/handle/BDPI/44838>
- Andreote FD (2007) Fatores determinantes na composição da comunidade bacteriana associada às plantas. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 203p.

- Araújo DK (2016) Extratos de *Ascophyllum nodosum* no tratamento de sementes de milho e soja: avaliações fisiológicas e moleculares. Tese (Doutorado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 109p
- Assis TF (1997) Propagação vegetativa de *Eucalyptus* por microestaquia In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF *EUCALYPTUS*, Salvador, 1997. Anais... Colombo: EMBRAPA/CNPQ, 1:300-304
- Baccarin FJB (2012) Métodos para resgate, conservação e multiplicação em larga escala de matrizes de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 78p
- Baccarin, FJB, Brondani GE, Almeida LV, Vieira IG, Oliveira LS, Almeida M (2015) Vegetative rescue and cloning of *Eucalyptus benthamii* selected adult trees. New For. 46(4):465-483
- Bartolini G, Tattini M (1986) Effects of phenolic acids and auxin on rooting *Olea europaea* L. cuttings. Hortscienc. 21:2-262
- Batagin-Piotto, KD (2013) Avaliação da atuação da manifestação bacteriana no desenvolvimento *in vitro* de clones de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage. Tese (Doutorado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 165p
- Bellini C, Pacurar DI, Perrone I (2014) Adventitious roots and lateral roots: similarities and differences. Annu. Rev. Plant Biol. 65:639-666
- Brondani GE, Dutra LF, Grossi F, Wendling I, Hornig J (2009) Estabelecimento, multiplicação e alongamento *in vitro* de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage x *Eucalyptus dunnii* Maiden. R. Árvore. 33(1):11-19
- Brondani GE (2012) Aspectos morfofisiológicos na clonagem de *Eucalyptus benthamii*. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 184p.
- Brondani GE, Baccarin FJB, Ondas HWW, Stape JL, Gonçalves NA, Almeida M (2012) Low temperature, IBA concentrations and optimal time for adventitious rooting of *Eucalyptus benthamii* mini-cuttings. J For.Resear. 23(4):583–592
- Bui EN, Thornhill AH, González-Orozco CE, Knerr N, Miller JT (2016) Climate and geochemistry as drivers of eucalypt diversification in Australia. Geobiology. 15:427–440
- Campbell R, Greaves MP (1990) Anatomy and community structure of the rhizosphere. In: Lynch JM. The Rhizosphere. New York: John Wiley p.11-34

- Campoe OC, Stape JL, Laclau JP, Marsden C, Nouvellon Y (2012) Stand-level patterns of carbon fluxes and partitioning in a *Eucalyptus grandis* plantation across a gradient of productivity, in São Paulo State, Brazil. *Tree Physiol.* 32:696-706
- Canzian WP, Fiedler NC, Brinate IB, Juvanhol RS, Bighi KN (2016) Diferentes concentrações de retardante de fogo em plantios de eucalipto. *Nativa.* 4(4):195-198
- Cardoso EJBN, Nogueira MA (2007) A Rizosfera e seus Efeitos na Comunidade Microbiana e na Nutrição de Plantas in Silveira APD, Freitas SS. *Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental.* Instituto Agrônomo de Campinas p.79-96
- Carvalho MEA, Castro PRC (2014) Extratos de algas e suas aplicações na agricultura. *Série Produtor Rural - nº 56,* 60p.
- Cook RJ, Thomashow LS, Weller DM, Fujimoto D, Mazzola M, Banger G, Kim DS (1995). Molecular mechanisms of defense by rhizobacteria against root disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* *Proc Natl Acad Sci USA.* 92:4197–4201
- Curir P, Vansumere CF, Termini A, Barthe P, Marchesini A, Dolci M (1990) Flavonoid accumulation is correlated with adventitious roots formation in *Eucalyptus gunnii* hook micropropagated through axillary bud stimulation. *Plant Physiol.* 92:1148-1153,
- de Almeida MR, Bastiani D, Gaeta ML, Mariath JEA, Costa F, Retallick J, Nolan L, Tai HH, Strömvik MV, Fett-Neto AG (2015) Comparative transcriptional analysis provides new insights into the molecular basis of adventitious rooting recalcitrance in *Eucalyptus*. *Pl. Scienc.* 239:155–165
- de Almeida MR, Aumond Jr. M, Costa CT, Scwambach J, Ruedell CM, Correa LR, Fett-Neto AG (2017) Environmental control of adventitious rooting in *Eucalyptus* and *Populus* cuttings. *Trees.* 31:1377-1390
- Dutra LF, Wendling I, Brondani GE (2009) A micropropagação de eucalipto. *Pesqui. Florest. Bras.* 58:49-59.
- Ferraz Filho AC, Mola-Yudego B, González-Olabarria, JR, Scolforo JR (2018) Thinning regimes and initial spacing for *Eucalyptus* plantations in Brazil. *An. Acad. Bras. Ciênc.* 90(1): 255-265
- Ferreira EM, Alfenas AC, Mafia RG, Leite HG, Sartorio RC, Filho RMP (2004) Determinação do tempo ótimo do enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus* spp. *Rev Árv.* 28:183-187
- Guttman DS, McHardy AC, Schulze-Lefert P (2014). Microbial genome-enabled insights into plant–microorganism interactions. *Nature Rev* 15:797-813
- Hartmann HT, Kester DE, Davies FT, Geneve RL (2002) *Plant Propagation: Principles and Practices.* 7th ed. New Jersey: Prentice-Hall, 880p

- Higa RCV, Higa AR, Trevisan R, Souza MVR (2000) Resistência e resiliência a geadas em *Eucalyptus dunnii* Maiden plantados em Campo Do Tenente, PR. Bol. Pesq. Fl. Colombo. 40:67-76
- Higashi EM, Silveira RLVA, Gonçalves NA (2000) Propagação vegetativa de *Eucalyptus*: princípios básicos e a sua evolução no Brasil. Circular Técnica IPEF, Piracicaba, n.192, p.11.
- Hiltner L (1904) Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie unter besonderer Berücksichtigung der Gründung und Brache. Arb. Deut. Landwirtschaft. Ges. 98:59-78
- IBÁ (2017) Indústria Brasileira de Árvores. Relatório IBÁ 2017, Brasília, 80p.
- Lakshmanan V, Selvaraj G, Bais HP (2014) Functional soil microbiome: belowground solutions to an aboveground problem. Plant Physiol. 166:689–700
- Li SW, Xue L, Xu S, Feng H, Na L (2009) Mediators, genes and signaling in adventitious rooting. Bot Rev. 75:230-247
- Lima CCM (1998) Uso de aditivos e cofatores na capacidade de enraizamento de plântulas de *Eucalyptus grandis* Hill. *in vitro*. 95p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP
- Ludwig-Müller J (2000) Indole-3-butyric acid in plant growth and development. Plant Growth Regul. 32:219-230
- Lundberg DS, Lebeis SL, Paredes SH, Yourstone S, Gehring J, Malfatti S, Tremblay J, Engelbrektson A, Kunin V, Rio TG, Edgar RC, Eickhorst T, Ley RE, Hugenholtz P, Tringe SG, Dangl JL (2012) Defining the core Arabidopsis thaliana root microbiome. Nature 488:86-90
- Mafia RG, Alfenas AC, Penchel Filho RM, Ferreira MA, Alfenas RF (2012) Murcha-bacteriana: disseminação do patógeno e efeitos da doença sobre a clonagem do eucalipto. Rev. Árv. 36(4):593-602
- Malavolta E (1980) Elementos de nutrição mineral de plantas. Piracicaba: Agronômica Ceres, 251p.
- Malavolta E, Vitti GC, Oliveira SA (1997) Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa do Potássio e do Fósforo, 319 p.
- Marchioro LET (2005) Produção de ácido indol acético e derivados por bactérias fixadoras de nitrogênio. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia Básica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR, 74 p.
- Marinho CGS, Zanetti R, Delabie JHC, Schlindwein MN, Ramos LS (2002) Diversidade de formigas (Hymenoptera: Formicidae) da serapilheira em

eucaliptais (Myrtaceae) e área de cerrado de Minas Gerais. *Ecology, Behavior and Bionomics*. 3(2):187-195

Matrangolo CAR, Castro RVO, Della Lucia TMC, Della Lucia RM, Mendes AFN, Costa JMFN, Leite HG (2010) Crescimento de eucalipto sob efeito de desfolhamento artificial. *Pesq. Agropec. Brasil*. 45(9):952-957.

McNabb K (2004) An introduction to plantation forestry in Brazil. In: Gonçalves JLM; Benedetti V. *Forest nutrition and fertilization*. 1a ed. Piracicaba: IPEF. Cap. 1, p 1-12

Mendes R, Kruijt M, Bruijn I, Dekkers E, Van Der Voort M, Schneider JHM, Piceno YM, DeSantis TZ, Andersen GL, Bakker PAHM, Raaijmakers JM (2011) Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. *Scienc*. 332:1097-1100

Nakhooda M, Jain SM (2016) A review of *Eucalyptus* Propagation and Conservation. *Propag Ornam Plants*. 16:101-119

Oliveira LS, Calsavara R, Batagin-Piotto KD, Brondani GE, Gonçalves AN, Almeida M (2015) Micropropagation of *Eucalyptus cloeziana* mature trees. *Austr. For*. 78(4):219-231

Pérez-Jaramillo JE, Mendes R, Raaijmakers JM (2015) Impact of plant domestication on rhizosphere microbiome assembly and functions. *Plant Mol Bio*. 1, p.1

Prado, DZ (2014) Enraizamento de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* pela ação de peróxido de hidrogênio, quercetina e ácido indolbutírico. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica Vegetal) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu/SP, 113p.

Parizotto W, Soares RV, Batista AC, Sousa NJ (2008) Controle dos incêndios florestais pelo corpo de bombeiros de Santa Catarina: Diagnóstico e sugestões para seu aprimoramento. *Floresta*. 38(4):651-662

Pereira JCD, Sturion JA, Higa AR, Higa RCV, Shimizu JY (2000) Características da madeira de algumas espécies de eucalipto plantadas no Brasil. Colombo: Embrapa Florestas. 113p. (Embrapa Florestas. Documentos, 38).

Plano de Manejo Florestal - Unidade São Paulo, 2016 - Resumo Público - Suzano Papel e Celulose, 40 p.

Ratniekes E, Assis TF (1993) O que há adiante da árvore? O papel. 54(1):41-48

Santos AF, Auer CG, Grigoletti Jr A (2001) Doenças do eucalipto no sul do Brasil: identificação e controle. Circular Técnica EMBRAPA - Ministério da Agricultura e do Abastecimento 20 p.

Santos JF, Soares RV, Batista AC (2006) Perfil dos incêndios florestais no Brasil em áreas protegidas no período de 1998 a 2002. *Floresta*. 36(1):93-100

- Santos KF, Schumacher MV (2016) Ecofisiologia e crescimento de *Eucalyptus* em condição de déficit hídrico. ENFLO. 4(2):33-44
- Scaramuzzo M (2018) Suzano compra Fibria e cria gigante global de celulose com valor de R\$ 84 bi. O Estado de São Paulo. Disponível em: <https://economia.estadao.com.br/noticias/geral,suzano-acerta-compra-do-controle-da-fibria,70002229549> - Acesso em: 24/09/2018.
- Souza SE, Sansigolo CA, Furtado EL, Jesus Jr WC, Rodrigo Rocha Oliveira RR (2010) Influência do cancro basal em *Eucalyptus grandis* nas propriedades da madeira e polpação kraft. Sci. For. 38(88):547-557
- Spurr AR (1957) The effect of boron on cell walls structure in celery. American Journal of Botany, 44:637-650
- Taiz L, Zeiger E (2009) Fisiologia vegetal. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 819 p.
- Taghavi S, Lelie DVD, Hoffman A, Zhang YB, Walla MD, Vangronsveld J, Newman L, Sébastien M (2010) Genome sequence of the plant growth promoting endophytic bacterium *Enterobacter* sp. 638. PLoS Genetic. 6:1-15
- Teixeira TOB, Silva ML, Jacovine LAG, Valverde SR, Silva JC, Pires VAV (2009) A percepção sobre o uso da madeira de eucalipto pelos fabricantes do polo moveleiro de Ubá-MG. Rev. Árv. 33:969-975
- Valdés AE, Irar S, Majada JP, Rodríguez A, Fernández B, Pagès M (2013) Drought tolerance acquisition in *Eucalyptus globulus* (Labill.): a research on plant morphology, physiology and proteomics. J Proteomics. 79:263-76.
- Xavier A, Otoni WC, Penchel RM (2007) Micropropagação e enxertia *in vitro* de espécies florestais. In: BORÉM, A. (Ed.) Biotecnologia florestal. Viçosa: Suprema Gráfica e Editora, 2007. p.55-74.
- Xavier A, Silva RL (2010) Evolução da silvicultura clonal de *Eucalyptus* no Brasil. Agronomia Costarricense. 34:93-98
- Zanuncio JC, Mezzomo JA, Guedes RNC, Oliveira AC (1998) Influence of strips of native vegetation on Lepidoptera associated with *Eucalyptus cloeziana* in Brazil. For. Ecol. Manag. 108:85-90

1 REVISÃO ENRAIZAMENTO

Resumo

A capacidade que uma planta apresenta para enraizar se refere a diversos fatores envolvidos com este evento morfogênico. Tendo em vista que este é o principal entrave encontrado para a propagação clonal de espécies lenhosas, o estudo e compreensão destes fatores é de suma importância para a otimização da produção de mudas clonais. Desta forma, a presente revisão tem como objetivo elucidar os diversos fatores que podem influenciar na rizogênese de espécies lenhosas. Para tanto, são abordados fatores como enraizamento adventício; os fatores que influenciam no desenvolvimento radicular; o papel da auxina no enraizamento; dos nutrientes; os fatores abióticos que também estão envolvidos neste evento fisiológico; bem como a atuação de microrganismos e bioestimulantes.

Palavras-chave: Rizogênese; Raízes Adventícias; Mudas Clonais; Bioestimulantes

Abstract

A plant ability to root refers to several factors involved to this morphogenic event. Considering that this is the main obstacle found for woody species clonal propagation, the study and understanding of these factors is the paramount importance for the optimization of the clonal plants production. Thus, the present review aims to elucidate the various factors that may influence the rhizogenesis of woody species. To do so, we address factors such as adventitious rooting; factors that influence root development; the role of auxin in rooting; nutrients; the abiotic factors that are also involved in this physiological event; as well as the performance of microorganisms and biostimulants.

Keywords: Rhizogenesis; Adventitious Roots; Clonal Plants; Biostimulants

REFERÊNCIAS

Abdel-Lateif K, Bogusz D, Hoher V (2012) The role of flavonoids in the establishment of plant roots endosymbiosis with arbuscular mycorrhiza fungi, rhizobia and Frankia bacteria. *Plant Signaling & Behavior*. 7(6):636-641

Abel S (2017) Phosphate scouting by root tips. *Current Opinion in Plant Biology*. 39:168-177

- Ahkami AH, Melzer M, Ghaffari MR, Pollmann S, Javid MG, Shahinnia F, Hajirezaei MR, Druege U (2013) Distribution of índole-3-acetic acid in *Petunia hybrid* shoot tip cuttings and relationship between auxin transport, carbohydrate metabolism and adventitious root formation. *Planta* 238(3):499-517
- Almeida CV (1999) Atuação do ácido tânico na nodulação e no desenvolvimento de *Anadenanthera falcata* (Benth.) Speg. - Mimosoideae. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas, área de Biologia Vegetal) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro/SP, 91p.
- Almeida CV, Andreote FD, Yara R, Tanaka FAO, Azevedo JL, Almeida M (2009) Bacteriosomes in axenic plants: endophytes as stable endosymbionts. *World J Microbiol Biotechnol* 25:1757-1764
- Almeida M, Almeida CV, Graner EM, Brondani GE, Abreu-Tarazi MF (2012) Pre-procambial cells are niches for pluripotent and totipotent stem-like cells for organogenesis and somatic embryogenesis in the peach palm: a histological study. *Plant Cell Report* 31:1495–1515
- Almeida M, Almeida CV (2014) Morfologia da raiz de plantas com sementes. Piracicaba: ESALQ/USP, 71p. Disponível em: <http://www.producao.usp.br/handle/BDPI/44838> Acesso em: 01/06/2018.
- Almeida M, Graner EM, Brondani GE, Oliveira LS, Artioli FA, Almeida LV, Leone GF, Baccarin FJB, Antonelli PO, Cordeiro GM, Oberschelp GPJ, Batagin-Piotto KD (2015) Plant morphogenesis: theoretical bases. *Advances in Forestry Science* 2:13-22
- Andrade PAM (2013) A composição da comunidade bacteriana do solo como fator determinante na micorrização de cana-de-açúcar por *Glomus clarum*. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 74p.
- Andreote FD, Gumiere T, Durrer A (2014) Exploring interactions of plant microbiomes. *Scientia Agricola* 71(6):528-539
- Appelbaum E. (2017) The Rhizobium/Bradyrhizobium-Legume Symbiosis. In: Gresshoff PM *Molecular Biology Of Symbiotic Nitrogen Fixation* CRC Press, 278p.
- Appezato-da-Glória B, Hayashi AH (2006) Raiz. In: Appezato-da-Glória B, Carmello-Guerreiro SM. *Anatomia Vegetal*. 2ª ed. Viçosa: Ed. UFV. 438p.
- Araújo CVM, Alves LJ, Santos OM, Alves JM (2004) Micorriza arbuscular em plantações de *Eucalyptus cloeziana* F. Muell no litoral norte da Bahia, Brasil. *Acta bot. bras.* 18(3): 513-520
- Araújo WL, Maccheroni W, Aguilar-Vildoso CI, Barroso PAV, Saridakis HO, Azevedo JL (2001) Variability and interactions between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. *Canad J Microbiol* 47:229-236

- Aremu AO, Masondo NA, Rengasamy KRR, Amoo SO, Gruz J, Bíba O, Subrtova M, Pencik A, Novák O, Dolezal K, Van Staden J (2015) Physiological role of phenolic biostimulants isolated from brown seaweed *Ecklonia maxima* on plant growth and development. *Planta*. 241:1313–1324
- Arezki O, Boxus P, Kevers C, Gaspar T (2000) Hormonal control of proliferation in meristematic agglomerates of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 36(5):398-401
- Assis TF, Teixeira SL (1998) Enraizamento de plantas lenhosas. In: Torres AC, Caldas LS, Buso JA (Ed.). *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: EMBRAPA, SPI; EMBRAPA, CNPH p. 261-296.
- Assis TF, Fett-Neto AG, Alfenas AC (2004) Current techniques and prospects for the clonal propagation of hardwoods with emphasis on *Eucalyptus*. In: *Plantation Forest Biotechnology for the 21st century*, eds. C. Walter and M. Carson, pp. 303-333.
- Azevedo JL (1998) Microrganismos endofíticos. In: Melo IS, Azevedo JL (Ed.). *Ecologia microbiana*. Jaguariúna: EMBRAPA, p.117-137.
- Azevedo JL, Araújo WL (2003) Genetically modified crops: environmental and human health concerns. *Mutation Research* 544:223-233.
- Baccarin FJB (2012) Métodos para resgate, conservação e multiplicação em larga escala de matrizes de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 78p.
- Bartolini G, Tattini M (1986) Effects of phenolic acids and auxin on rooting *Olea europaea* L. cuttings. *Hortscience*. 21:2-262
- Batagin-Piotto KD (2013) Avaliação da atuação da manifestação bacteriana no desenvolvimento *in vitro* de clones de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage. Tese (Doutorado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 165p.
- Bellini C, Pacurar DI, Perrone I (2014) Adventitious Roots and Lateral Roots: Similarities and Differences. *Annu. Rev. Plant Biol.* 65:639-666
- Benková E, Michniewicz M, Sauer M, Teichmann T, Seifertová D, Jürgens G, Friml J. (2003) Local, efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation. *Cell*. 115:591–602
- Bolton Jr. H, Fredrickson JK, Elliott L (1992) Microbial ecology of the rhizosphere. *Soil microbial Ecology*, New York, 2th. Ed. p.27-63
- Boon E, Meehan CJ, Whidden C, Wong DHJ, Langille MGI, Beiko RG (2014) Interactions in the microbiome: communities of organisms and communities of genes. *FEMS Microbiology Reviews* 38:90-118

- Borges SR, Xavier A, Oliveira LS, Melo LA, Rosado AM (2011) Enraizamento de miniestacas de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*. Revista Árvore 35:425-434
- Brondani GE, Baccarin FJB, Wit Ondas HW, Stape JL, Gonçalves AN, Almeida M (2012) Low temperature, IBA concentrations and optimal time for adventitious rooting of *Eucalyptus benthamii* mini-cuttings. J Forest Res 23(4):583-592
- Brondani GE, Oliveira LS, Konzen ER, Silva ALL, Costa JL (2017) Mini-incubators improve the adventitious rooting performance of *Corymbia* and *Eucalyptus* microcuttings according to the environment in which they are conditioned. Anais da Academia Brasileira de Ciências. 90(2):2409-2423
- Bucio JL, Hernández-Abreu EH, Calderón LS, Nieto-Jacobo MF, Simpson J, Herrera-Estrella L (2002) Phosphate availability alter architecture and causes changes in hormone sensitivity in the *Arabidopsis* root system. Plant Physiol. 129:244-256
- Bulgarelli D, Garrido-Oter R, McHardy AC, Schulze-Lefert P (2015) Structure and Function of the Bacterial Root Microbiota in Wild and Domesticated Barley. Cell Host & Microbe. 17:392-403
- Campbell R, Greaves MP (1990) Anatomy and community structure of the rhizosphere. In: LYNCH, J.M. The Rhizosphere. New York: John Wiley. p. 11-34.
- Cardoso EJB, Nogueira MA (2007) A Rizosfera e seus Efeitos na Comunidade Microbiana e na Nutrição de Plantas. In: Silveira APD, Freitas SS. Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental. Instituto Agronômico de Campinas. p.79-96.
- Cheyrier V, Comte G, Davies KM, Lattanzio V, Martens S (2013) Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. Plant Physiology and Biochemistry. 72:1-20
- Celador-Lera L, Menéndez E, Peix A, Igual JM, Velázquez E, Rivas R (2017) *Rhizobium zea* sp. nov., isolated from maize (*Zea mays* L.) roots. Int J Syst Evol Microbiol. 67:2306-2311
- Chiminelli LO (2017) Resultados em campo do Algaren. Disponível em: <<http://agroatacado.com.br/novidades/resultados-em-campo-do-algaren/>>. Acesso em: 26/07/2018.
- Cohen JD, Bandurski RS (1982) Chemistry and physiology of the bound auxins. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol. 33(1):403-430
- Costa CT, De Almeida MR, Ruedell CM, Michels C, Schwambach J, Maraschin FS, Fett-Neto AG (2013) When stress and development go hand in hand: Main hormonal controls of adventitious rooting in cuttings. Frontiers in Plant Science. 4:133-19
- Cunha ACMCM, Paiva HN, Leite HG, Barros NF, Leite FP (2009a) Relações entre variáveis climáticas com produção e enraizamento de miniestacas de eucalipto. Rev. Árv. 33(2):195-203

- Cunha ACMCM, Paiva HN, Xavier A, Otoni WC (2009b) Papel da nutrição mineral na formação de raízes adventícias em plantas lenhosas. *Pesq. Flor. Brasil.* 58:35-47.
- Curir P, Vansumere CF, Termini A, Barthe P, Marchesini A, Dolci M (1990) Flavonoid accumulation is correlated with adventitious roots formation in *Eucalyptus gunnii* Hook micropropagated through axillary bud stimulation. *Plant Physiology.* 92:1148-1153
- Davis TD, Haissig BE, Sankhla N (1988) Adventitious root formation in cuttings. Portland: Dioscorides Press.
- De Almeida MR (2009) Análise de genes de referência para estudos de expressão gênica em *Eucalyptus globulus* Labill durante o processo de enraizamento adventício através da técnica de PCR Quantitativo em Tempo Real. Monografia (Bacharel Ciências Biológicas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, 43p.
- De Almeida MR (2015) Bases moleculares da recalcitrância ao enraizamento adventício em *Eucalyptus globulus* Labill. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, 76p.
- De Almeida MR, Bastiani D, Gaeta ML, Mariath JEA, Costa F, Retallick J, Nolan L, Tai HH, Strömvik MV, Fett-Neto AG (2015) Comparative transcriptonal analysis provides new insights into the molecular basis of adventitious rooting recalcitrance in *Eucalyptus*. *Plant Scienc* 239:155-165
- De Almeida MR, Aumond Jr M, Da Costa CT, Schwambach J, Ruedell CM, Correa LR, Fett-Neto AG (2017) Environmental control of adventitious rooting in *Eucalyptus* and *Populus* cuttings. *Trees* 31:1377–1390
- De Klerk GJ, Van Der Krieken W, De Jong JC (1999) The formation of adventitious roots: new concepts, new possibilities. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* 35:189–199
- De Klerk GJ (2002) Rooting of microcuttings: theory and practice. *In Vitro Cell Dev Biol.* 38:415-422
- De Klerk GJ, Guan H, Huisman P, Marinova S (2011) Effects of phenolic compounds on adventitious root formation and oxidative decarboxylation of applied indoleacetic acid in *Malus* 'Jork 9'. *Plant Growth Regul.* 63:175-185
- De Smet I, Voss U, Jürgens G, Beeckman T (2009) Receptor-like kinases shape the plant. *Nature Cell Biology*, 11:1166-1173
- Dubbert M, Werner C (2018) Water fluxes mediated by vegetation: emerging isotopic insights at the soil and atmosphere interfaces. *New Phytolog.* 0:1-18
- Du Jardin P (2015) Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae.* 196:3-14

- Esau K (1977) *Anatomy of Seed Plants*, 2nd Edition. John Wiley & Sons, New York: [i]-xx, 1-550.
- Ferreira A, Quecine MC, Lacava PT, Oda S, Azevedo JL, Araújo WL, Fisher DB (2008) Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. *Histochemistry and Cell Biology*. 16:92-96.
- Ferreira BGA, Zuffellato-Ribas KC, Carpanezi AA, Tavares FR, Koehler HS (2009) Metodologias de aplicação de AIB no enraizamento de estacas semilenhosas de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. *Rev. Bras. Plantas Med.* 11(2):196-201
- Freitas SS (2007) Rizobactérias Promotoras do Crescimento de Plantas. In: Silveira APD, Freitas SS. *Microbiota do Solo e Qualidade Ambiental*. Instituto Agronômico de Campinas. p.1-20.
- Forde BG, Clarkson DT (1999) Nitrate and ammonium nutrition of plants: physiological and molecular perspectives. *Advances in Botanical Research*. 30:1-90
- Forde BG (2014) Nitrogen signalling pathways shaping root system architecture: an update. *Current Opinion in Plant Biology*. 21:30-36
- Gajewska E, Skłodowska M (2007) Effect of nickel on ROS content and antioxidative enzyme activities in wheat leaves. *Biometals*. 20:27-36
- Galdiano Jr. RF, Pedrinho EAN, Castellane TCL, Lemos EGM (2011) Auxin-producing bacteria isolated from the roots of *Cattleya walkeriana*, an endangered Brazilian orchid, and their role in acclimatization. *Rev Brasil Ciênc Solo* 35:729-737
- Ge Y, Fang X, Liu W, Sheng L, Xu L (2018) Adventitious lateral rooting: the plasticity of root system architecture. *Physiol Plant*. <https://doi.org/10.1111/ppl.12741>
- Geiss G, Gutierrez L, Bellini C (2009) Adventitious root formation: new insights and perspective. In: Beeckman T (ed) *Root Development*. John Wiley & Sons Ltd., London, pp 127–156
- Giehl RFH, von Wirén N (2014) Root nutrient foraging. *Plant Physiol*. 166:509-517
- Graner EM, Brondani GE, Almeida CV, Batagin-Piotto KD, Almeida M (2014) Study of senescence of the *Bactris gasipaes* Kunth *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 120:1169-1189
- Hackett WP (1987) Donor plant maturation and adventitious root formation. In: Davies TD, Haissig BE, Sankhla N (Ed.). *Adventitious root formation in cuttings*. Portland: Dioscorides, p. 11-28. (Advances in Plant Sciences Series, 2).
- Hammatt N (1993) Micropropagation of fastigate bird cherry (*Prunus padus* L.) and adventitious shoot formation from leaves. *Journal of horticultural Science*. 68(6):975-981
- Handro W, Floh EIS (1990) Aspectos básicos do controle da morfogênese *in vitro*. In: Torres AC, Caldas LS. *Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas*. Brasília: ABCT/EMBRAPA-CNPq p.203-212.

- Hartmann HT, Kester DE, Davies Jr FT, Geneve RL (2002) Plant propagation principles and practices. 7th ed. New Jersey: Prentice-Hall. 880p.
- Hartmann HT, Kester DE, Davies Jr FT, Geneve RL (2011) Principles of propagation by cuttings. In: Hartmann HT, Kester DE, Davies Jr FT, Geneve RL (ed.) Hartmann & Kester's Plant propagation: principles and practices. Prentice Hall, New Jersey, pp. 280-343
- Hernández I, Alegre L, Breusegem FV, Munné-Bosch S (2009) How relevant are flavonoids as antioxidants in plants? Trends in Plant Science. 14(3)
- Higashi EM, Silveira RLVA, Gonçalves AN (2004) Nutritional monitoring and fertilization in clonal macro, mini and microgardens. In: Gonçalves JLM, Benedetti V (Eds.) Forest nutrition and fertilization. Piracicaba: IPEF:195-221
- Hiltner L (1904) Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache. Arb. Deut. Landwirtsch. Ges. 98:59-78
- Hungria M, Campo RJ, Mendes IC (2001) Fixação biológica do nitrogênio na cultura da soja. Londrina: Embrapa Soja – (Circular Técnica / Embrapa Soja, ISSN 1516-7860, n.35) (Circular Técnica / Embrapa Cerrados, ISSN 1517-0187, n.13), 48p.
- Kauffman GL, Kneivel DP, Watschke TL (2007) Effects of a biostimulant on the heat tolerance associated with photosynthetic capacity, membrane thermostability, and polyphenol production of perennial ryegrass. Crop Sci. 47:261–267
- Kevers C, Hausman JF, Faivre-Rampant O, Evers D, Gaspar T (1997) Hormonal controls of adventitious rooting: progress and questions. Angew Bot. 71:71-79
- Khokhar I, Haider MS, Mukhtar IAA, Mushtaq S (2011) Evaluation of antagonistic activity of soil bacteria against plant pathogens fungi. Pakistan J Phytopathol 23:166-169
- Kirkby EA, Römheld V (2007) Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade. Encarte técnico: Informações Agronômicas, International Plant Nutrition Institute. N° 118, 24p.
- Kong X, Zhang M, Smet ID, Ding Z (2014) Designer crops: optimal root system architecture for nutrient acquisition. Trends in Biotechnol. 32(12):597-598
- Lakshmanan V, Selvaraj G, Bais HP (2014) Functional soil microbiome: belowground solutions to an aboveground problem. Plant Physiol 166:689–700
- Lambais MR, Carvalho JC, Maluche-Baretta CR, Büll RC (2005) Diversidade microbiana nos solos: definindo novos paradigmas. Tópicos em Ci. solo. 4:43-84
- Lederberg J, McCray AT (2001) 'Ome Sweet Omics'- a genealogical treasury of words. The Scientist 15:7-8
- Leone GF (2013) Estabelecimento de protocolo para controlar a manifestação de bactérias endofíticas no processo de multiplicação *in vitro* de eucalipto.

- Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 101p.
- Li SW, Xue L, Xu S, Feng H, An L (2009) Mediators, genes and signaling in adventitious rooting. *The Botanical Review* 75(2):230-247
- Lima CCM (1998) Uso de aditivos e cofatores na capacidade de enraizamento de plântulas de *Eucalyptus grandis* Hill. *in vitro*. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 95p.
- Lima CC, Ohashi ST (2016) Substrato no enraizamento de estacas provenientes de mudas de *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*. *Enciclopédia biosfera*. 13(23):1270-1282
- Ludwig-Müller J (2000) Indole-3-butyric acid in plant growth and development. *Plant Growth Regulation* 32:219-230
- Lundberg DS, Lebeis SL, Paredes SH, Yourstone S, Gehring J, Malfatti S, Tremblay J, Engelbrektson A, Kunin V, Rio TG, Edgar RC, Eickhorst T, Ley RE, Hugenholtz P, Tringe SG, Dangl JL (2012) Defining the core Arabidopsis thaliana root microbiome. *Nature* 488:86-90
- Marchioro LET (2005) Produção de ácido indol acético e derivados por bactérias fixadoras de nitrogênio. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia Básica). Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR, 74 p.
- Mendes R, Kruijt M, Bruijn I, Dekkers E, Van Der Voort M, Schneider JHM, Piceno YM, DeSantis TZ, Andersen GL, Bakker PAHM, Raaijmakers JM (2011) Deciphering the rizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. *Scienc*. 332:1097-1100
- Mengel K, Kirkby EA (1987) Principles of plant nutrition. Switzerland.: Bern: Intern. Potash Institute, 687p.
- Mercante FM, Franco AA (2000) Expressão dos genes *nod* de *Rhizobium tropici*, *R. etli* e *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* e estabelecimento da nodulação do feijoeiro na presença de exsudatos de sementes de *Mimosa flocculosa* e *Leucaena leucocephala*. *R. Bras. Ci. Solo*, 24:301-310
- Mercante FM, Goi SR, Franco AA (2002) Importância dos compostos fenólicos nas interações entre espécies leguminosas e rizóbio. *Universidade Rural*. 22(1):65-81
- Norberto, PM (1999) Efeitos da época de poda, cianamida hidrogenada, irrigação e ácido indolbutírico na colheita antecipada e enraizamento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.). Dissertação (Mestrado em Agronomia - Fitotecnia). Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG, 89p.

- Ofek M, Voronov-Goldman M, Hadar Y, Minz D (2014) Host signature effect on plant root-associated microbiomes revealed through analyses of resident vs active communities. *Environm Microbiol* 16:2157-2167
- Ono EO, Rodriques JD (1996) Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares. Jaboticabal: FUNEP, 83p.
- Ortíz-Castro R, Contreras-Cornejo HA, Macías-Rodríguez L, López-Bucio J (2009) The role of microbial signals in plant growth and development. *Plant Signaling & Behavior* 4(8):701-712
- Osmont KS, Sibout R, Hardtke CS (2007) Hidden branches: developments in root system architecture. *Annu. Rev. Plant Biol.* 58:93-113
- Pacheco-Villalobos D, Hardtke CS (2012) Natural genetic variation of root system architecture from *Arabidopsis* to *Brachypodium*: towards adaptive value. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 367:1552–1558
- Pacurar DI, Pacurar ML, Bussell JD, Schwambach J, Pop TI, Kowalczyk M, Gutierrez L, Cavel E, Chaabouni S, Ljung K, Fett-Neto AG, Pamfil D, Bellini C (2014) Identification of new adventitious rooting mutants amongst suppressors of the *Arabidopsis thaliana* superroot2 mutation. *J. Exp. Bot.* 65(6):1605–1618
- Pandey D, Pathak RK (1981) Effect of Rootstocks, IBA and Phenolic Compounds on the Rooting of Apple Cuttings. *Propagation of Horticulture.* 13:105-110
- Patten CL, Glick BR (2002) Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *App Environm Microbiol* 68:3795-3801
- Peer WA, Murphy AS (2007) Flavonoids and auxin transport: modulators or regulators? *Trends in Plant Science* 12(12)
- Pérez-Jaramillo JE, Mendes R, Raaijmakers JM (2015) Impact of plant domestication on rhizosphere microbiome assembly and functions. *Plant Molecular Biology* 1:1
- Peters NK, Frost JW, Long SRA (1986) plant flavone, luteolin, induces expression of *Rhizobium meliloti* nodulation genes. *Science*, 233:977-980
- Pimenta JA (2012) Relações Hídricas. In: Fisiologia vegetal. Kerbauy GB (Ed.) Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 2^a ed. 431p.
- Porto AJ, Bosqueti BB (2017) Uso da água no enraizamento de estacas de amoreira. *Pesq. Tecnol.* 14(2):1-6
- Ramage CM, Williams RR (2002) Mineral nutrition and plant morphogenesis. In *Vitro Cell Dev Biol Plant.* 38:115-124
- Robinson D (1994) The response of plants to non-uniform supplies of nutrients. *New Phytologist* 127:635-674.
- Rovira AD, Davey CB (1974) Biology of the rhizosphere. In: Carson EW (ed.) *The plant root and its environment.* Charlottesville: Virginia Press. p.153-204

- Ryan RP, Germaine K, Franks A, Ryan D, Dowling DN (2008) Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS Microbiol Letters* 278:1-9
- Sako H, Soares JE, Silva LA, Balardin R (2005) Relações de enraizamento e cálcio no solo para alta produtividade da safra 15/16. *Boletim Técnico 1:CESB (Comitê Estratégico Soja Brasil)*, 15p.
- Santana MC (2018) Análise da comunidade de fungos em áreas de monoculturas e consórcio de *Eucalyptus grandis* e *Acacia mangium*. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 110p.
- Sati A, Sati AC, Negi JS, Sati OP (2018) Mineral composition of *Berberis aristata* DC roots. *Analytical Chemistry Letters*. 8(3):361-367
- Schulz B, Boyle C (2005) The endophytic continuum. *Mycol Res* 109:661-686
- Shahzad Z, Amtmann A (2017) Food for thought: how nutrients regulate root system architecture. *Current Opin Plant Biol*. 39:80-87
- Siqueira JO, Nair MG, Hammerschmidt R, Safir GR (1991) Significance of phenolic compounds in plant-soil-microbial systems. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 10:63-121
- Smith S, Read DJ (2008) *Mycorrhizal symbiosis*. 3rd ed. Boston: Academic Press 787p.
- Sorin C, Bussell JD, Camus I, Ljung K, Kowalczyk M, Geiss G, McKhann H, Garcion C, Vaucheret H, Sandberg G, Bellini C (2005) Auxin and Light Control of Adventitious Rooting in *Arabidopsis* Require ARGONAUTE. *The plant cell*. 17:1343-1359
- Strobel GA (2003) Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes and Infection* 5:535-544
- Sukumar P, Legué V, Vayssières A, Martin F, Tuskan GA, Kalluri UC (2013) Involvement of auxin pathways in modulating root architecture during beneficial plant-microorganism interactions. *Plant, Cell and Environment* 36:909-919
- Tsavkelova EA, Klimova SY, Cherdyntseva TA, Netrusov AI (2006a) Hormones and hormone-like substances of microorganisms: a review. *Appl Biochem Microbiol* 42:229-235
- Tsavkelova EA, Klimova SY, Cherdyntseva TA, Netrusov AI (2006b) Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. *Appl Biochem Microbiol* 42(2):117-126
- Thimann KV, Went FW (1934) On the chemical nature of the root-forming hormone of plants. *Proc Kon Akad Wetensch* 37:456-458
- Villacorta-Martín C, Sánchez-García AB, Villanova J, Cano A, Rhee MVD, de Haan J, Acosta M, Passarinho P, Pérez-Pérez JM (2015) Gene expression profiling during adventitious root formation in carnation stem cuttings. *BMC Genomics*. 16:789

Zhang Y, Ruyter-Spira C, Bouwmeester HJ (2015) Engineering the plant rhizosphere. *Current Opinion in Biotechnology*, 32:136–142

2 APLICAÇÃO DE BIOESTIMULANTES NO PROCESSO DE ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE EUCALIPTO

Resumo

A técnica de miniestaquia associada ao uso de AIB é uma prática comum na clonagem de genótipos de eucaliptos, no entanto, é recorrente observar distinções organográficas nas raízes adventícias provenientes da miniestaca, bem como na estrutura e arquitetura do sistema radicular desenvolvido. Assim, espera-se que o uso de bioestimulantes com potencial para sintetizar reguladores de crescimento vegetais, como o ácido tânico, produto secundário do metabolismo vegetal e o Algaren BZn[®], fertilizante composto por extrato da alga *Ecklonia maxima* enriquecido com boro, zinco, represente uma alternativa ecológica e econômica para potencializar a rizogênese no processo de clonagem para multiplicação maciça de mudas. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi verificar a atuação destes produtos nos parâmetros morfofisiológicos de três espécies de eucaliptos (*E. urograndis*; *E. benthamii* e *E. urophylla*), principalmente no que se refere à formação de raízes e sua funcionalidade. Para tanto foram elaborados quatro tratamentos associados com 1ppm de ácido indol butírico (AIB) em talco (T1: CONTROLE; T2: ÁCIDO TÂNICO; T3: ALGAREN BZN[®] e T4: T2 + T3), nas concentrações de 250mg/L de ácido tânico e 1ml/L de Algaren BZn[®]. As miniestacas nos respectivos tratamentos foram mantidas por 35 dias em casa de vegetação. Após este período, constatou-se que o uso de ácido tânico foi o melhor resultado obtido em todos os clones estudados.

Palavras-chave: Enraizamento; Ácido tânico; Composto fenólico; Algaren BZn[®]; Extrato de alga

Abstract

The minicutting technique associated with the AIB use is a common practice to cloning eucalyptus genotypes; however, it is common to observe morphological distinctions in the adventitious roots derived from the minicutting, as well as in the structure and architecture of this root system. Thus, it is expected that the use of biostimulants with potential to produce plant growth regulators such as tannic acid, a byproduct of vegetable metabolism and Algaren BZn[®], a fertilizer composed by the *Ecklonia maxima* extract enriched with boron, zinc, represents an ecological and economical alternative, to potentiate the rhizogenesis in the cloning process to

improve seedlings multiplication. Thus, the aim of this research was to verify if the application of these products affects morphophysiological parameters of three species (*Eucalyptus urograndis*, *E. benthamii* and *E. urophylla*), especially with regard to root formation and its functionality. For this, four treatments associated with 1ppm of indolebutyric acid (IBA) with talc as a vehicle (T1: CONTROL, T2: TANNIC ACID, T3: ALGAREN BZN® and T4: T2 + T3) were tested in the concentrations of 250mg/L for tannic acid and 1ml/L for Algaren BZn®. The minicuttings in those treatments were maintained for 35 days under greenhouse conditions. After this period, it was found that tannic acid use was the best result obtained in all clones studied.

Keywords: Rooting; Tannic acid; Phenolic compound; Algaren BZn®; Seaweed extract

Conclusões

- ✓ O uso de ácido tânico na concentração de 250mg/L associado ao AIB otimiza o enraizamento de miniestacas de eucalipto nas três espécies estudadas (*Eucalyptus urograndis*; *E. benthamii* e *E. urophylla*);
- ✓ O uso de Algaren BZn® foi indiferente para enraizamento de miniestacas de eucalipto;
- ✓ Nenhum dos tratamentos aplicados causou alterações estruturais nas raízes adventícias desenvolvidas.

REFERÊNCIAS

- Alfenas AC, Zauza EAV, Mafia RG, Assis TF (2004) Clonagem e doenças do eucalipto. Viçosa: Editora UFV, 442 p.
- Almeida CV (1999) Atuação do ácido tânico na nodulação e no desenvolvimento de *Anadenanthera falcata* (Benth.) Speg. - Mimosoideae. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas, área de Biologia Vegetal) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro/SP, 91p.
- Almeida FD (2006) Propagação vegetativa de *Eucalyptus cloeziana* F. Muell. por estaquia e miniestquia. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa/MG, 86p.

- Almeida FD, Xavier A, Dias JMM, Paiva HN (2007) Eficiência das auxinas (AIB e ANA) no enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus cloeziana* F. Muell. Revista Árvore. 31(3):455-463
- Almeida LV (2012) Técnicas para otimização da multiplicação *in vitro* de brotações de *Eucalyptus citriodora* (Hook) K.D.Hill & L.A.S.Johnson. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 107p.
- Almeida M, Almeida CV, Graner EM, Brondani GE, Abreu-Tarazi MF (2012) Pre-procambial cells are niches for pluripotent and totipotent stem-like cells for organogenesis and somatic embryogenesis in the peach palm: a histological study. Plant Cell Report 31:1495–1515
- Almeida M, Almeida CV (2014) Morfologia da raiz de plantas com sementes. Piracicaba: ESALQ/USP, 71p. Disponível em: <http://www.producao.usp.br/handle/BDPI/44838>
- Ansari TM, Ikram N, Najam-ul-Haq M, Fayyaz I, Fayyaz Q, Ghafoor I, Khalid N (2004) Essential trace metal (zinc, manganese, copper and iron) levels in plants of medicinal importance. International Journal of Biological Sciences. 4:95-99
- Araújo DK (2016) Extratos de *Ascophyllum nodosum* no tratamento de sementes de milho e soja: avaliações fisiológicas e moleculares. Tese (Doutorado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 109p
- Assis TF, Teixeira SL (1998) Enraizamento de plantas lenhosas. In: Torres AC, Caldas LS, Buso JA (Ed.). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: EMBRAPA, SPI; EMBRAPA, CNPH, p.261-296.
- Azevedo GTOS, Souza AM, Azevedo GB, Cerqueira PHA (2015) Enraizamento de miniestacas de eucalipto com diferentes doses de polímero hidrorretentor incorporado ao substrato. Sci. For. 43(108):773-780
- Bartolini G, Tattini M (1986) Effects of phenolic acids and auxin on rooting *Olea europaea* L. cuttings. Hortscience. 21(2):2–262
- Batagin-Piotto KD (2013) Avaliação da atuação da manifestação bacteriana no desenvolvimento *in vitro* de clones de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage. Tese (Doutorado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 165p.
- Bray JR, Curtis JT (1957) An ordination of the upland forest communities of Southern Wisconsin. Ecological Monographs. 27(4):325–349
- Borges SR, Xavier A, Oliveira LS, Lopes AP, Otoni WC (2011) Multiplicação *in vitro* de clones híbridos de *Eucalyptus globulus* Rev. Árv. 35(2):173-182

- Brondani GE, Grossi F, Wendling I, Dutra FL, Araujo MA (2010) Aplicação de IBA para o enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cabage x *Eucalyptus dunii* Maiden. *Acta Scientiarum Agronomy*. 32(4):667-674
- Brondani GE (2012) Aspectos morfofisiológicos na clonagem de *Eucalyptus benthamii*. 2012. 184p. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 186p.
- Brondani GE, Baccarin FJB, Wit Ondas HW, Stape JL, Gonçalves NA, Almeida M (2012) Low temperature, IBA concentrations and optimal time for adventitious rooting of *Eucalyptus benthamii* mini-cuttings. *J. For. Res.* 23(4):583-592
- Carvalho MEA, Castro PRC (2014) Extratos de algas e suas aplicações na agricultura. *Série Produtor Rural* - nº 56, 60p.
- Castro-Silva MA; Rörig LR, Lamb LH, Heck CA, Decusati OG (2004) Microrganismos associados ao tratamento de águas de asbatemento com coagulante vegetal (tanato quaternário de amônio) - I. microrganismos filamentosos. *Rev. Estudo Bio.* 26(54):21-27
- Chiminelli LO (2017) Resultados em campo do Algaren. Disponível em: <<http://agroatacado.com.br/novidades/resultados-em-campo-do-algaren/>>. Acesso em: 26/07/2018.
- Costa MM, Di Mauro AO, Unêda-Trevisoli SH, Arriel NHC, Bárbaro IM, Muniz FRS (2004) Ganho genético por diferentes critérios de seleção em populações segregantes de soja. *Pesq. agropec. bras.* 39(11):1095-1102
- Curir P, Vansumere CF, Termini A, Barthe P, Marchesini A, Dolci M (1990) Flavonoid accumulation is correlated with adventitious roots formation in *Eucalyptus gunnii* hook micropropagated through axillary bud stimulation. *Plant Physiol.* 92:1148-1153
- Cruz CD, Carneiro PCS (2008) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. 2.ed. Viçosa: UFV.
- Cruz JBF; Soares HF (2011) Uma revisão sobre o zinco. *Ensaio e Ciência Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde.* 15(1):208-222
- Davis TD, Haissig BE, Sankhla N (1988) Adventitious root formation in cuttings. Portland: Dioscorides Press. 2:174-84
- De Bruyne T, Pieters L, Deelstra H, Vlietinck A (1999) Condensed vegetable tannins: biodiversity in structure and biological activities. *Biochemical Systematics and Ecology.* 27:445-459
- Dragičević V, Nikolić B, Waisi H, Stojiljković M, Đurović S, Spasojević I, Perić V (2015) Alterations in mineral nutrients in soybean grain induced by organo-

mineral foliar fertilizers. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 2(12):1-8

- Du Jardin P (2015) Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*. 196:3-14
- Echer FR, Dominato JC, Creste JE (2009) Absorção de nutrientes e distribuição da massa fresca e seca entre órgãos de batata-doce. *Horticultura Brasileira* 27:176-182.
- Ertani A, Sambo P, Nicoletto C, Santagata S, Schiavon M, Nardi S (2015) The use of organic biostimulants in hot pepper plants to help low input sustainable agriculture. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 2(1):1-10
- Fogaça CM (2003) Papel da auxina e seus moduladores na rizogênese de *Eucalyptus globulus* Labill e *Eucalyptus saligna* Smith. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, 69p.
- Fisher DB (1968) Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. *Histochemie*. 16:92-96
- Gomes GLGC (2011) Alterações metabólicas de plantas de milho submetidas à aplicação de glyphosate e fosfito. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu/SP, 104p.
- Grones P, Chen X, Simon S, Kaufmann WA, De Rycke R, Nodzyński T, Zažímalová E, Friml J (2015) Auxin-binding pocket of ABP1 is crucial for its gain-of-function cellular and developmental roles. *J. Exp. Bot.* 66(16):5055-5065.
- Hammer O, Harper DAT, Ryan PD (2001) PAST: Paleontological statistical software package for education and data analysis. *Paleontological electronica*. 4:1-9
- Hartmann HT, Kester DE, Davies FT, Geneve RL (2002) *Plant Propagation: Principles and Practices*. 7th ed. New Jersey: Prentice-Hall, 880p
- Haslam E (1993) *Shikimic acid: metabolism and metabolites*. Chinchester: John Wiley, 1993. 392p.
- Josten P, Kutschera U (1999) The micronutrient boron causes the development of adventitious roots in sunflower cuttings. *Annals of Botany Company*. 84:337-342
- Karnovsky MJA (1965) A Formaldehyde-glutaraldehyde Fixative of High Osmolality for use in Electron Microscopy. *Journal of Cell Biology*. 27(2):137-138
- Kauffman GL, Kneivel DP, Watschke TL (2007) Effects of a biostimulant on the heat tolerance associated with photosynthetic capacity, membrane thermostability, and polyphenol production of perennial ryegrass. *Crop Sci*. 47:261–267
- Kirkby EA, Römheld V (2007) Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade. *Encarte do Informações Agronômicas* Nº 118, 24p.

- Krikorian AD (1995) Hormones in tissue culture and micropropagation. In: Plant Hormones, 2^a Ed., Davies PJ (Ed)., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, p.774-796
- Lajús CR, Sobral LS, Belotti A, Savaris MA, Lampert S, Santos SRF, Kunst T (2007) Ácido Indolbutírico no Enraizamento de Estacas Lenhosas de Figueira (*Ficus carica* L.). Rev. Bras. Bioc. 5(2):1107-1109
- Leone GF (2013) Estabelecimento de protocolo para controlar a manifestação de bactérias endofíticas no processo de multiplicação *in vitro* de eucalipto (2013). Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 100p.
- Li SW, Xue L, Xu S, Feng H, An L (2009) Mediators, genes and signaling in adventitious rooting. The Botanical Review 75(2):230-247
- Malavolta E (2006) Manual de nutrição mineral de plantas. Ceres, São Paulo, 638 p.
- Mello JCP, Santos SC (2001) Taninos. In: Simões CM, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmagnosia: da planta ao medicamento. 3 ed. Porto Alegre: Ed.URGRS/Ed. UFSC
- Monteiro JM, Albuquerque UO, Araújo EL (2005) Taninos: uma abordagem da química e ecologia. Química Nova. 28(5):892-896
- Mulamba NN, Mock JJ (1978) Improvement of yield potential of the Eto Blanco maize (*Zea mays* L.) population by breeding for plant traits. Egyptian Journal of Genetic and Cytology, Giza, 7:40-51
- Ono EO, Barros AS, Rodrigues JD, Pinho SZ (1994) Enraizamento de estacas de *Platanus acerifolia*, tratadas com auxinas. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 29(9):1373-1380
- Ono EO, Rodrigues JD (1996) Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares. Jaboticabal: FUNEP, 83 p.
- Pereira KTO, Oliveira FA, Cavalcante ALG, Dantas RP, Mychelle Oliveira KT, Costa JPBM (2016) Qualidade de mudas de moringa sob diferentes níveis de nutrientes aplicados via fertirrigação. Pesq. flor. bras. 36(88):497-504
- Queiroz CRAA, Morais SAL, Nascimento EA (2002) Caracterização dos taninos da Aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). Rev. Árvore. 26(4):485-492
- Ramage CM, Williams RR (2002) Mineral nutrition and plant morphogenesis. In Vitro Cellular and Development Biology. 38:115-124
- Rocha JHT, Backes C, Borelli K, Rey M (2015) Produtividade do minijardim e qualidade de miniestacas de um clone híbrido de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* (I-224) em função de doses de nitrogênio. Ciênc. Flor. 25(2):273-279

- Rocha SA, Garcia GO, Lougon MS, Cecílio RA, Caldeira MVW (2014) Crescimento e nutrição foliar de mudas de *Eucalyptus* sp. irrigadas com diferentes qualidades de água. *Revista de Ciências Agrárias*. 37(2):141-151
- Santos LDT, Graça RN, Alfenas AC, Ferreira FA, Ferreira LR, Oda S (2007) Glyphosate sobre a resistência à ferrugem (*Puccinia psidii*) do eucalipto. *Planta Daninha*. 25(1):139-147
- Silva PNL, Souza LG, Redigolo MVN, Cardoso AII (2018) Produção de brócolis em função das doses de nitrogênio e potássio na fertirrigação das mudas. *Revista de Agricultura Neotropical*. 5(4):61-67
- Souza AV, Pereira AMS (2007) Enraizamento de plantas cultivadas *in vitro*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 9(4):103-117
- Staden JV, Beckett RP, Rijkenberg MJ (1995) Effect of seaweed concentrate on the growth of the seedlings of three species of *Eucalyptus*. *S. Afr. J. Bot.* 61(4):169-172
- Taiz L, Zeiger E (2009) *Fisiologia vegetal*. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 819 p.
- Takahashi EK (2002) Transferência do gene atacina A para plantas de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) por biobalística. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 156p.
- Teixeira DHL, Oliveira MSP, Gonçalves FMA, Nunes JAR (2012) Índices de seleção no aprimoramento simultâneo dos componentes da produção de frutos em açazeiro. *Pesq. agropec. bras.* 47(2):237-243
- Thimann KV, Went FW (1934) On the chemical nature of the root-forming hormone of plants. *Proc Kon Akad Wetensch* 37:456-458
- Trevizam R, Brondani GE, Nery FU, Gonçalves AN, Almeida M (2011) Caracterização morfológica de calos de *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake sob concentrações de boro e cálcio. *Cerne*. 17(2):215-222
- Viana RS; Nunes RCA; Machado Neto NB (2017) Fitorreguladores na formação de calos em segmentos foliares de gerbera (*Gerbera jamesonii*). *Rev. Mirante*. 10(5a):42-54
- Voet D, Voet JG (2006) *Bioquímica*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 1596 p.
- Wendling I, Xavier A, Gomes JM, Pires IE, Andrade HB (2000) Minicuttings and microcuttings rooting of *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden clones as affected by IBA. *Rev. Árv.* 24(2):187-192
- Wendling I, Xavier A (2005) Indolbutiric acid and serial minicutting technique on rooting and vigor of *Eucalyptus grandis* clone minicuttings. *Rev. Árv.* 29(6):921-93

3 ACLIMATIZAÇÃO DE MICROESTACAS DE *Eucalyptus urograndis* ALONGADAS *IN VITRO* COM BIOESTIMULANTES

Resumo

A técnica *in vitro* é extremamente interessante e vantajosa por induzir a reversão à juvenilidade de clones micropropagados, pois além da produção maciça de mudas uniformes, as condições de cultivo favorecem também, o enraizamento de espécies e/ou clones que apresentam considerável recalcitrância a este evento morfogênico. Neste sentido, é de extrema importância a busca pela otimização nas etapas e, conseqüentemente, nas mudas geradas a partir da técnica de micropropagação. Desta forma, no presente trabalho foram testados os bioestimulantes ácido tânico (250mg/L) e Algaren BZn[®](1ml/L) em meios de cultura para alongamento de brotações de *Eucalyptus urograndis*, sendo estes utilizados de forma isolada e/ou em combinação, tendo como controle os tratamentos convencionais. Após 90 dias de cultivo *in vitro*, brotações alongadas foram coletadas e aclimatizadas até a formação de mudas. Todas as fases foram avaliadas e seus dados analisados por meio de índice de somatória de ranks, a partir do qual se constatou que o tratamento com ácido tânico foi o mais satisfatório e o tratamento composto pela união dos bioestimulantes (ácido tânico e Algaren BZn[®]) e com Algaren BZn[®] isolado apresentaram resultados inferiores ao tratamento controle. Apesar das diferenças observadas quanto aos parâmetros morfofisiológicos, análises histológicas evidenciaram que todos os tratamentos desenvolveram mudas aptas para serem conduzidos ao campo, formando sistema radicular com origem cambial direta e com conexão vascular.

Palavras-chave: Enraizamento; Micropropagação; Brotações alongadas; Ácido tânico; Extrato de alga

Abstract

The *in vitro* technique is extremely interesting and advantageous for inducing the reversion to youthfulness of micropropagated clones, since in addition to the uniform seedlings massive production, its cultivation conditions also favor the rooting of species and/or clones that present considerable recalcitrance to this morphogenic event. On this way, the search for optimization in micropropagation stages is extremely important and, consequently, in the seedlings generated from this technique. So, on this work the biostimulants tannic acid (250mg/L) and Algaren BZn[®] (1ml/L) were applied in culture media to elongate *E. urograndis* shoots, which were used in isolated and/or in combination, having as control the conventional treatments. After 90 days at *in vitro* culture, elongated shoots were cutted and acclimatized until the plant formation. All phases were evaluated and their data

analyzed by ranks summation index, from which it was verified that the treatment with tannic acid was the most satisfactory and the treatment composed by biostimulants union (tannic acid and Algaren BZn[®]) and Algaren BZn[®] isolated had presented inferior results to the control treatment. In spite of the observed differences in the morphophysiological parameters, histological analyzes showed that all treatments developed plants suitable for going to the field, with a root system with cambial direct origin and vascular connection.

Keywords: Rooting; Micropropagation; Shoots elongation; Tannic acid; Seaweed extract

Conclusões

- ✓ A aplicação de ácido tânico em meio de cultura para alongamento de brotações de eucalipto garante melhores resultados em todas as fases de formação da muda;
- ✓ Algaren BZn[®] apresentou resultados inferiores ao tratamento controle;
- ✓ O uso combinado de ácido tânico com Algaren BZn[®] foi insatisfatório para produção de mudas micropropagadas;
- ✓ Nenhum dos tratamentos aplicados causou alterações estruturais nas raízes adventícias desenvolvidas.

REFERÊNCIAS

- Almeida M, Almeida CV, Graner EM, Brondani GE, Abreu-Tarazi MF (2012) Pre-procambial cells are niches for pluripotent and totipotent stem-like cells for organogenesis and somatic embryogenesis in the peach palm: a histological study. *Plant Cell Report* 31:1495–1515
- Araújo DK (2016) Extratos de *Ascophyllum nodosum* no tratamento de sementes de milho e soja: avaliações fisiológicas e moleculares. Tese (Doutorado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 109p.
- Aremu AO, Masondo NA, Rengasamy KRR, Amoo SO, Gruz J, Bíba O, Subrtova M, Pencik A, Novák O, Dolezal K, Van Staden J (2015) Physiological role of phenolic

- biostimulants isolated from brown seaweed *Ecklonia maxima* on plant growth and development. *Planta*. 241:1313–1324
- Ávila MR, Braccin AL, Scapim CA, Albrecht LP, Tonin TA, Stülpe M (2008) Bioregulator application, agronomic efficiency, and quality of soybean seeds. *Scientia Agricola*. 65(6):604-612
- Baccarin FJB (2012) Métodos para resgate, conservação e multiplicação em larga escala de matrizes de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cabbage. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 78p.
- Baccarin, FJB, Brondani GE, Almeida LV, Vieira IG, Oliveira LS, Almeida M (2015) Vegetative rescue and cloning of *Eucalyptus benthamii* selected adult trees. *New For*. 46(4):465-483
- Bartolini G, Tattini M (1986) Effects of phenolic acids and auxin on rooting *Olea europaea* L. cuttings. *Hortscience*. 21:2-262
- Batagin-Piotto KD (2013) Avaliação da atuação da manifestação bacteriana no desenvolvimento *in vitro* de clones de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cabbage. Tese (Doutorado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 165p.
- Brondani GE (2012) Aspectos morfofisiológicos na clonagem de *Eucalyptus benthamii*. 2012. 184p. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba – São Paulo.
- Brondani GE, Ondas HWW, Baccarin FJB, Gonçalves AN, Almeida M (2012) Micropropagation of *Eucalyptus benthamii* to form a clonal micro-garden. *In vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 48(5):35-48
- Carretto CFP, Navas EAFA, Paradella TC, Oliveira LD, Junqueira JC, JORGE AOC (2007) Efeitos do chá de tomilho sobre a aderência *in vitro* de *Streptococcus mutans* ao esmalte dentário e *Candida albicans* à resina acrílica. *Revista de Odontologia da UNESP*. 36(3):281-286

Carvalho MEA, Castro PRC (2014) Extratos de algas e suas aplicações na agricultura.

Série Produtor Rural - nº 56, 60p.

Castro PRC, Vieira EL (2001) Ação de bioestimulante na germinação de sementes,

vigor das plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja. Revista

Brasileira de Sementes. 23(2):222-228

Correia D, Gonçalves AN, Couto HYZ, Ribeiro MC (1995) Efeito do meio de cultura

líquido e sólido no crescimento e desenvolvimento de gemas de *Eucalyptus grandis*

x *Eucalyptus urophylla* na multiplicação *in vitro*. IPEF, Piracicaba, n. 48/49, p. 107-

116

Cruz CD, Carneiro PCS (2008) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento

genético. 2.ed. Viçosa: UFV.

Curir P, Vansumere CF, Termini A, Barthe P, Marchesini A, Dolci M (1990) Flavonoid

accumulation is correlated with adventitious roots formation in *Eucalyptus gunnii*

Hook micropropagated through axillary bud stimulation. Plant Physiology, v.92,

1148-1153

Dutra LF, Wendling I, Brondani GE (2009) A micropropagação de eucalipto. Pesquisa

Florestal Brasileira. 58:49-59

Fisher DB (1968) Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy.

Histochemie. 16:92-96

Gajewska E, Skłodowska M (2007) Effect of nickel on ROS content and antioxidative

enzyme activities in wheat leaves. Biometals. 20:27-36

Galdiano Júnior RF (2009) Isolamento, identificação e inoculação de bactérias

produtoras de auxinas associadas às raízes de orquídeas. Dissertação (Mestrado

em Genética e Melhoramento de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrárias e

Veterinárias UNESP, Jaboticabal/SP, 83p.

George EF, Hall MA, De Klerk GJ (2008) Plant propagation by tissue culture.

Dordrecht:Springer, 2008. 501p.

- Grattapaglia D, Machado MA (1998) Micropropagação. In: Torres AC, Caldas LS, Buso JA (Ed.) Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPH, 1998. 1:183-260.
- Hammatt N (1993) Micropropagation of fastigate bird cherry (*Prunus padus* L.) and adventitious shoot formation from leaves. *Journal of horticultural Science*. 68(6):975-981
- Kevers C, Franck T, Strasser RJ, Dommes J, Gaspar T (2004) Hyperhydricity of micropropagated shoots: at typically stress-induced change of physiological state. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 77:181-191
- Leone GF (2013) Estabelecimento de protocolo para controlar a manifestação de bactérias endofíticas no processo de multiplicação *in vitro* de eucalipto. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 101p.
- Li SW, Xue L, Xu S, Feng H, Na L (2009) Mediators, genes and signaling in adventitious rooting. *Bot Rev*. 75:230-247
- Lima CCM (1998) Uso de aditivos e cofatores na capacidade de enraizamento de plântulas de *Eucalyptus grandis* Hill. *in vitro*. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 95p.
- Lloyd G, McCown B (1981) Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. *Combined Proceedings International Plant Propagators Society*. 30:421-427
- Ludwig-Müller J (2000) Indole-3-butyric acid in plant growth and development. *Plant Growth Regul*. 32:219-230
- Malavolta E (1980) Elementos de nutrição mineral de plantas. Piracicaba: Agronômica Ceres, 251p.
- Malavolta E, Vitti GC, Oliveira SA (1997) Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2. ed. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa do Potássio e do Fósforo, 319 p.

- Marchioro LET (2005) Produção de ácido indol acético e derivados por bactérias fixadoras de nitrogênio. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia Básica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR, 74 p.
- Mulamba NN, Mock JJ (1978) Improvement of yield potential of the *Eto Blanco maize* (*Zea mays* L.) population by breeding for plant traits. *Egyptian Journal of Genetic and Cytology*, Giza, 7:40-51
- Murashige T, Skoog F (1962) A review medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*. 15:473-493
- Pandey D, Pathak RK (1981) Effect of Rootstocks, IBA and Phenolic Compounds on the Rooting of Apple Cuttings. *Propagation of Horticulture*. 13:105-110
- Pearse AGE (1968) *Histochemistry. Theoretical and Applied*. Boston: Little, Brown. 759p.
- Peres LEP (2004) *Metabolismo Secundário*. Apostila da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. 26p.
- Prado DZ (2014) Enraizamento de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* pela ação de peróxido de hidrogênio, quercetina e ácido indolbutírico. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica Vegetal) - Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu/SP, 113p.
- Santos VM, Melo AV, Cardoso DP, Gonçalves AH, Varanda MAF e Taubinger M (2013) Uso de bioestimulantes no crescimento de plantas de *Zea mays* L. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*. 12(3):307-318
- Spurr AR (1957) The effect of boron on cell walls structure in celery. *American Journal of Botany*, 44:637-650
- Teixeira DHL, Oliveira MSP, Gonçalves FMA, Nunes JAR (2012) Índices de seleção no aprimoramento simultâneo dos componentes da produção de frutos em açaizeiro. *Pesq. agropec. bras*. 47(2):237-243
- Vasconcelos AGV, Tomas LF, Camara TR, Willadino L (2012) Hiperidricidade: uma desordem metabólica *Cienc. Rural*. 42(5):837-844

Wendling I, Dutra LF (2010) Produção de mudas de eucalipto. Colombo: Embrapa Florestas, 2010. 184p.

Zanuncio JC, Mezzomo JA, Guedes RNC, Oliveira AC (1998) Influence of strips of native vegetation on Lepidoptera associated with *Eucalyptus cloeziana* in Brazil. For. Ecol. Manag. 108:85-90

4 BIOESTIMULANTES NA ACLIMATIZAÇÃO DE MICROESTACAS DE *Eucalyptus urophylla*

Resumo

O uso de bioestimulantes na aclimatização de microestacas de *Eucalyptus urophylla* apresenta-se como promissor no desenvolvimento das plantas, garantindo melhor rizogênese e subsequente desempenho no campo. Para tanto, o presente trabalho aplicou os bioestimulantes ácido tânico (250mg/L) e Algaren BZn[®] (1ml/L) isolados e/ou em combinação, além do tratamento controle, na base das microestacas de eucaliptos em fase de aclimatização (T1: controle; T2: ácido tânico; T3: Algaren BZn[®] e T4: T2 +T3) e nas bandejas (base das miniestufas) (T5: controle; T6: ácido tânico; T7: Algaren BZn[®] e T8: T6 +T7). As microestacas foram mantidas por 30 dias nestas condições e posteriormente foram submetidas às subseqüentes fases da aclimatização, em ambiente de casa de sombra e pleno sol, nas quais não foram mais aplicados os tratamentos. Todas as fases foram avaliadas e os resultados, analisados com o índice de somatória de ranks, a partir do qual se constatou que os tratamentos com Algaren BZn[®] (T3 e T7) foram os mais satisfatórios e, com ácido tânico (T2 e T4) os resultados mostraram-se inferiores ao controle (T1) quando aplicados na base das microestacas. Já, quando aplicado nas bandejas das miniestufas, o tratamento com ácido tânico (T6) e o controle (T5), apresentaram-se inferiores àquele formado pela somatória dos dois bioestimulantes (T8). Apesar das diferenças observadas entre os tratamentos, as análises anatômicas evidenciaram que todos os tratamentos tiveram rizogênese direta a partir de células cambiais e apresentaram conexão vascular entre as raízes adventícias e a parte aérea, comprovando a eficiência do sistema radicular originado.

Palavras-chave: Enraizamento; Eucalipto; Micropropagação; Ácido tânico; Algaren BZn[®]

Abstract

The use of biostimulants in *Eucalyptus urophylla* microcuttings acclimatization might be promising in the plants development, guaranteeing a better rhizogenesis and subsequent performance in the field. Thus, the present study applied the biostimulants tannic acid (250mg/L) and Algaren BZn[®] (1ml/L) isolated and/or in combination, besides the control treatment at the base of eucalyptus microcuttings in acclimatization (T1: control; T2: tannic acid; T3: Algaren BZn[®] and T4: T2 +T3) and at the ministuff base (T5: control; T6: tannic acid; T7: Algaren BZn[®] and T8: T6 +T7). The microcuttings were kept for 30 days on these conditions and afterwards, they were submitted to the subsequent acclimatization phases, at shade house and full sun, in which treatments were no longer applied. All phases were evaluated and their results were analyzed with the ranks summation index, which showed that the treatments with Algaren BZn[®] (T3 and T7) were the most satisfactory and the treatments with tannic acid (T2 and T4) presented inferior results than the control treatment (T1) when applied at the base of the microcuttings. When applied at the ministuff base, the treatments with tannic acid (T6) and control (T5) were inferior to that formed by the sum of the two biostimulants (T8). Despite these differences between treatments, anatomical analyzes showed that all treatments had direct rhizogenesis from cambial cells and vascular connection between the adventitious roots and the aerial part, proving the efficiency of the originated root system.

Keywords: Rooting; Eucalyptus; Micropropagation; Tannic acid; Algaren BZn[®]

Conclusões

- ✓ O uso de Algaren BZn[®] na concentração de 1ml/l otimiza o enraizamento de microestacas de *Eucalyptus*;
- ✓ A aplicação de ácido tânico na base das microestacas não foi um bom tratamento, enquanto que quando aplicado nas bandejas das miniestufas foi indiferente;
- ✓ Nenhum dos tratamentos aplicados causou alterações estruturais nas raízes adventícias desenvolvidas.

Referências

Almeida M, Almeida CV (2014) Morfologia da raiz de plantas com sementes. Piracicaba: ESALQ/USP, 71p. Disponível em:
<http://www.producao.usp.br/handle/BDPI/44838>

- Almeida M, Almeida CV, Graner EM, Brondani GE, Abreu-Tarazi MF (2012) Pre-procambial cells are niches for pluripotent and totipotent stem-like cells for organogenesis and somatic embryogenesis in the peach palm: a histological study. *Plant Cell Report* 31:1495–1515
- Amaral-Baroli A, Lago JHG, Almeida CV, Almeida M, Scotti MT, Leone GF, Soares MG, Cavalari AA, Sartorelli P (2016) Variability in essential oil composition produced by micropropagated (*in vitro*), acclimated (*ex vitro*) and in-field plants of *Ocimum basilicum* (Lamiaceae). *Industrial Crops and Products*. 86:180-185
- Araújo DK (2016) Extratos de *Ascophyllum nodosum* no tratamento de sementes de milho e soja: avaliações fisiológicas e moleculares. Tese (Doutorado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 109p.
- Aremu AO, Masondo NA, Rengasamy KRR, Amoo SO, Gruz J, Bíba O, Subrtova M, Pencik A, Novák O, Dolezal K, Van Staden J (2015) Physiological role of phenolic biostimulants isolated from brown seaweed *Ecklonia maxima* on plant growth and development. *Planta*. 241:1313–1324
- Assis TF, Rosa OP, Gonçalves SI (1992) Propagação clonal de *Eucalyptus* por microestaquia. In: Congresso Florestal Estadual, 7. Nova Prata, Anais. Santa Maria: UFSM. 1992. P.824-837.
- Baccarin FJB (2012) Métodos para resgate, conservação e multiplicação em larga escala de matrizes de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 78p.
- Blakesley D, Weston GD, Hall JF (1991) The role of endogenous auxin in root initiation. *Plant Growth Regulation* 10(4):341-353
- Brondani GE (2012) Aspectos morfofisiológicos na clonagem de *Eucalyptus benthamii*. 2012. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 184p.
- Brondani GE, Ondas HWW, Baccarin FJB, Gonçalves AN, Almeida M (2012) Micropropagation of *Eucalyptus benthamii* to form a clonal micro-garden. *In vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 48(5):35-48
- Carvalho MEA, Castro PRC (2014) Extratos de algas e suas aplicações na agricultura. *Série Produtor Rural - nº 56*, 60p.
- Ciepiela GA, Godlewska A, Jankowska J (2016) The effect of seaweed *Ecklonia maxima* extract and mineral nitrogen on fodder grass chemical composition. *Environ Sci Pollut Res*. 23:2301-2307
- Correia ACG, Xavier A, Dias PC, Titon M, Santana RC (2015) Redução foliar em miniestacas e microestacas de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*. *Revista Árvore*. 39(2):295-304

- Costa CT, De Almeida MR, Ruedell CM, Michels C, Schwambach J, Maraschin FS, Fett-Neto AG (2013) When stress and development go hand in hand: Main hormonal controls of adventitious rooting in cuttings. *Frontiers in Plant Science* 4:133–19
- Costa MM, Di Mauro AO, Unêda-Trevisoli SH, Arriel NHC, Bárbaro IM, Muniz FRS (2004) Ganho genético por diferentes critérios de seleção em populações segregantes de soja. *Pesq. agropec. bras.* 39(11):1095-1102
- Cruz CD, Carneiro PCS (2008) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. 2.ed. Viçosa: UFV.
- Davey MR, Anthony P (2010) *Plant cell culture: essencial methods*. Singapore: Markono Print Media Pte. 341p.
- De Almeida MR, Bastiani D, Gaeta ML, Mariath JEA, Costa F, Retallick J, Nolan L, Tai HH, Strömvik MV, Fett-Neto AG (2015) Comparative transcriptonal analysis provides new insights into the molecular basis of adventitious rooting reclacitrance in *Eucalyptus*. *Plant Scienc* 239:155-165
- De Klerk GJ, Van Der Krieken W, De Jong JC (1999) The formation of adventitious roots: new concepts, new possibilities. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* 35:189–199
- Dias RZ (2016) Poliploidização induzida *in vitro*, como estratégia biotecnológica para a otimização da cultura de eucalipto. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 66p.
- Dutra LF, Wendling I, Brondani GE (2009) A micropropagação de eucalipto. *Pesq. Flor. Bras.* 58:49-59
- Ferrari MP, Grossi F, Wendling I (2004) Propagação vegetative de espécies florestais. Colombo: Embrapa Florestas. 22p. (Embrapa Florestas. Documentos, 94).
- Fisher DB (1968) Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. *Histochemie.* 16:92-96
- França DM (2016) Bioinsumos à base de substâncias húmicas podem afetar o crescimento inicial de *Calophyllum brasiliensis* Cambess? Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária “FAV”, Brasília/DF, 48p.
- Fogaça CM (2003) Papel de auxinas e seus moduladores na rizogênese de *Eucalyptus globulus* Labill e *Eucalyptus saligna* Smith. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, 70p.
- Hartmann HT, Kester DE, Davies FT (1990) *Plant Propagation: Principles and Practices*. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall. 5th ed.

- Higashi EM, Silveira RLVA, Gonçalves NA (2000) Propagação vegetativa de *Eucalyptus*: princípios básicos e a sua evolução no Brasil. Circular Técnica IPEF, Piracicaba, n.192, p.11.
- IBÁ (2017) Indústria Brasileira de Árvores. Relatório IBÁ 2017, Brasília, 80p.
- Jan FG, Hamayun M, Hussain A, Jan G, Iqbal A, Khan A, Lee IJ (2019) An endophytic isolate of the fungus *Yarrowia lipolytica* produces metabolites that ameliorate the negative impact of salt stress on the physiology of maize. BMC Microbiology. 19:3
- Leone GF (2013) Estabelecimento de protocolo para controlar a manifestação de bactérias endofíticas no processo de multiplicação *in vitro* de eucalipto. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 101p.
- Lloyd G, McCown B (1981) Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. Combined Proceedings International Plant Propagators Society. 30:421-427
- Massa NB (2010) The use of seaweed-based products from *Ecklonia maxima* and *Ascophyllum nodosum* as control agents for *Meloidogyne chitwoodi* and *M. hapla* on tomato plants. Dissertação (Mestrado em Nematologia) – Universidade de Gante, Gante/Bélgica, 29p.
- Mulamba NN, Mock JJ (1978) Improvement of yield potential of the *Eto Blanco maize* (*Zea mays* L.) population by breeding for plant traits. Egyptian Journal of Genetic and Cytology, Giza, 7:40-51
- Murashige T, Skoog F (1962) A review medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum. 15:473-493
- Nehra NS, Becwar MR, Rootmann WH, Pearson L, Chowdhury K, Chang S, Wilde HD, Kodrzycki RJ, Zhang C, Gause KC, Parks DW, Hinchee MA (2005) Forest biotechnology: innovative methods, emerging opportunities. In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant. 41(6):701-717.
- Oliveira LS, Xavier A, Dias PC, Correia ACG, Borges SR, Takahashi EK, Paiva HN (2012) Enraizamento de miniestacas e microestacas de clones de *Eucalyptus urophylla* x *E. globulus* e de *Eucalyptus grandis* x *E. globulus*. Scientia Forestalis. 40(96):507-516
- Oliveira LS (2014) Propagação de *Eucalyptus cloeziana* F. Muell. Tese (Silvicultura e Manejo Florestal). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba/SP, 145p.
- Pearse AGE (1968) Histochemistry. Theoretical and Applied. Boston: Little, Brown. 759p.
- Peres LEP (2004) Metabolismo Secundário. Apostila da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. 26p.

- Ratniekes E, Assis TF (1993) O que há adiante da árvore? O papel. 54(1):41-48
- Reis GG, Reis MGF (1997) Fisiologia da brotação de eucalipto com ênfase nas suas relações hídricas. Série técnica IPEF. 11(30):9-22
- Rengasamy KRR, Kulkarni MG, Stirk WA, Van Staden J (2015) Eckol - a new plant growth stimulant from the brown seaweed *Ecklonia maxima*. J Appl Phycol. 27:581-587
- Santos-Serejo JA, Junghans TG, Soares TL, Silva KM (2006) Meios Nutritivos para Micropropagação de Plantas. In: Souza AS; Junghans TG. Introdução à micropropagação de plantas. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. 152p.
- Santos VM, Aurélio Vaz de Melo AV, Cardoso DP, Gonçalves AH, Sousa DCV, Silva AR (2017) Uso de bioestimulantes no crescimento de plantas de soja. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável. 12(3):512-517
- Scheffer-Basso SM, Voss M, Jacques AVÁ (2001) Nodulação e Fixação Biológica de Nitrogênio de *Adesmia latifolia* e *Lotus corniculatus* em Vasos de Leonard. Rev. bras. zootec. 30(3):687-693
- Tarjan AC (1977) Kelp derivatives for nematode-infected citrus trees. Journal of nematology. 9:287
- Vincent JM (1970) A manual for the practical study of root nodule bacteria. Oxford: Blackwell Scientific, 1970. 164 p.
- Xavier A, Silva RL (2010) Evolução da silvicultura clonal de *Eucalyptus* no Brasil. Agronomia Costarricense. 34:93-98

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos nos experimentos realizados para otimizar a produção de mudas clonais de eucalipto, inferiram que o uso dos bioestimulantes apresentou resultados superiores aos tratamentos controle, ou seja àqueles comumente empregados nas técnicas de propagação clonal.

Para a obtenção de miniestacas, sugerimos o uso de 250mg/L de ácido tânico associado com 1ppm de AIB (aplicado no momento da estaquia). Para microcepas de eucaliptos, é aconselhável a aplicação da mesma dosagem do ácido tânico em meio de cultura WPM associado aos hormônios vegetais utilizados para alongamento das brotações, otimizando assim, a sua aclimatização.

Os bioestimulantes usados na fase de aclimatização das microestacas, podem ser aplicados de duas maneiras: na base das microestacas e diretamente na bandeja das miniestufas. Neste caso, sugerimos o uso de Algaren BZn® (1ml/L).

Assim, de forma geral, constatamos que a adição de bioestimulantes na propagação clonal de *Eucalyptus benthamii*; *E. urograndis* *E. urophylla* otimiza a produção de mudas saudáveis e com sistema radicular funcional.