

ENRAIZAMENTO DE *SAPIUM GLANDULATUM* (VELL.) PAX.
PELA APLICAÇÃO DE ÁCIDO INDOL BUTÍRICO E ÁCIDO BÓRICO

ROOTING OF *SAPIUM GLANDULATUM* (VELL.) PAX.
WITH INDOLEBUTYRIC ACID AND BORON

Bárbara G. A. FERREIRA ⁽¹⁾,

Katia Christina ZUFFELLATO-RIBAS ⁽¹⁾, Antonio Aparecido CARPANEZZI ⁽²⁾,

Fernando R. TAVARES ⁽²⁾, Maria Regina T. BOEGER ⁽¹⁾ & Henrique S. KOEHLER ⁽³⁾

(1) Dept. de Botânica, Setor de Ciências Biológicas / UFPR

(2) Embrapa Florestas

(3) Dept. de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias / UFPR

RESUMO

Sapium glandulatum (Vell.) Pax. (Euphorbiaceae), vulgarmente conhecida como pau-de-leite ou leiteiro, pode ser encontrada desde o sul do Rio Grande do Sul até o sul de Minas Gerais, sendo uma árvore nativa recomendada para a recuperação de ecossistemas degradados, devido principalmente à sua rusticidade e ornitocoria intensa. Uma vez que a espécie apresenta baixo poder de germinação de sementes, o presente trabalho teve como objetivo o estudo da formação de mudas, por meio da propagação vegetativa via estaquia. Estacas de pau-de-leite foram confeccionadas a partir de material proveniente de cerca de 20 plantas-matrizes situadas em Bocaiúva do Sul, no Estado do Paraná. As coletas foram realizadas nas quatro estações do ano, a fim de determinar a melhor época de retirada dos ramos. De um total de 400 estacas, lotes de 50 estacas foram submetidos a oito tratamentos diferentes, sendo imersos, por 10 segundos, em soluções combinadas de ácido indol butírico (IBA) (0, 2000 e 4000mg.l⁻¹) e ácido bórico (0 e 150mg.l⁻¹), ou sofrendo aplicações de IBA (2000 e 4000mg.l⁻¹) na forma de talco. Após 60 dias em casa de vegetação, o melhor tratamento foi IBA 4000mg.l⁻¹, em solução, apresentando 28% de enraizamento. O verão correspondeu à melhor época para retirada dos ramos. Após a análise anatômica das secções basais das estacas enraizadas, foi possível verificar maior desenvolvimento do córtex causado pela ação do IBA.

Palavras-chave: ácido bórico, ácido indol butírico, anatomia, estaquia, pau-de-leite, *Sapium glandulatum*.

ABSTRACT

Sapium glandulatum (Vell.) Pax (Euphorbiaceae), popularly known as "pau-de-leite" or "leiteiro", is a native tree species from ombrophylous forests of Southern Brazil, used in recuperation of degraded environments due to its rusticity and intense ornitochory. As this species presents a low rate of seed germination, asexual reproduction is recommended as the best way for its propagation. Therefore, the objective of this study was the analysis of the production of plants through cutting. Cuttings of *S. glandulatum* were prepared from the stems of plants collected at the municipality of Bocaiúva do Sul, State of Paraná, during each of the four seasons of the year, in order to determine the best period for such collections. From 400 cuttings, 50 cuttings were submitted to eight different treatments: immersion, for 10 seconds, in a solution of IBA (indolebutyric acid), in the following concentrations: 0, 2000 and 4000 mg.l⁻¹ IBA, with or without 150 mg.l⁻¹ of boron, besides the use of 2000 and 4000mg.l⁻¹ of IBA in powder form. The cuttings were cultured in a green house for 60 days. The results suggested that the treatment that produced the best root system was the solution of IBA 4000mg.l⁻¹, which resulted in 28% of root development. Summer was the best season to collect branches of *S. glandulatum* since the development of roots was facilitated in this season. The anatomical study showed that cuttings treated with IBA presented higher development of the cortical region.

Key words: anatomy, boron, cutting, indolebutyric acid, "pau-de-leite", *Sapium glandulatum*.

A espécie arbórea *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax. (Euphorbiaceae), conhecida vulgarmente como pau-de-leite, leiteiro, pau-branquinho ou figueirinha, ocorre desde o sul do Rio Grande do Sul até o sul de Minas Gerais, em biomas variados como florestas estacionais, florestas ombrófilas e outros (REITZ *et al.* 1983, SANCHOTENE 1985, LORENZI 1992). Apesar de seu potencial na reabilitação de ecossistemas degradados, devido principalmente à sua rusticidade e ornitocoria intensa, a espécie apresenta baixo poder de germinação de sementes, sendo recomendada sua propagação vegetativa (SANCHOTENE 1985).

Em linhas gerais, propagação vegetativa é a multiplicação de um vegetal a partir de tecidos que possuem capacidade de reassumir suas atividades meristemáticas. É a maneira mais rápida e segura de se obter uma nova planta com características iguais às do indivíduo que a originou (SILVA 1984). Para a otimização da técnica de estaquia, são utilizadas substâncias que estimulam o enraizamento, sendo, na sua maioria, pertencentes ao grupo das auxinas, como o ácido indol butírico (IBA), o ácido naftaleno acético (NAA) e o ácido indol acético (IAA) (HARTMANN *et al.* 1997). Alguns micronutrientes, como o boro, têm sido considerados co-fatores do enraizamento, potencializando a ação das auxinas, possibilitando assim maior porcentagem de enraizamento em estacas de várias espécies (KERSTEN 1990, ONO 1994, RIBAS 1997).

Além de concentrações satisfatórias de auxinas e co-fatores, o sucesso de enraizamento depende de características anatômicas das espécies estudadas. Para algumas, a dificuldade de enraizamento é devida à presença de fibras e esclereídes no floema primário do caule da estaca, formando um anel contínuo na região cortical do caule, que bloqueia mecanicamente o primórdio radicial formado (EDWARDS & THOMAS 1980, WHITE & LOVELL 1984).

O objetivo do presente trabalho foi estudar a formação de mudas de *Sapium glandulatum* por meio da propagação vegetativa via estaquia, através da aplicação de diferentes concentrações de ácido indol butírico, associado ou não a ácido bórico, em estacas coletadas nas quatro estações do ano. Adicionalmente, procurou-se avaliar a existência de tecidos que pudessem atuar como barreiras mecânicas para a formação de raízes adventícias, bem como a ação da auxina sobre a estrutura anatômica caulinar das estacas em estudo.

Um total de 400 estacas foi obtido a partir de ramos semilenhosos de cerca de 20 árvores adultas de *Sapium glandulatum* ocorrentes em Floresta Ombrófila Mista, no Sítio Mocelim, localizado na região de Tarimba, Bocaiúva do Sul, Estado do Paraná (PR), no outono, inverno, primavera e verão de 1999. A espécie foi registrada no herbário do Curso de Engenharia Florestal, da Universidade Federal do Paraná, como exsicata CFC 9204.

As estacas com cerca de 10cm de comprimento e um par de folhas na porção apical, reduzidas à metade, conforme recomendação de HARTMANN *et al.* (1997), foram imersas em solução de hipoclorito de sódio a 0,5% (ação bactericida) por 15 minutos, sendo posteriormente lavadas em água corrente e imersas em Benlate a 0,5g/l (ação fungicida). Depois, suas bases foram mergulhadas, por 10 segundos, em soluções combinadas de ácido indol butírico (IBA) e ácido bórico, ou sofreram aplicações de IBA na forma de talco, nos seguintes tratamentos (T):

- T1: 0 mg.l⁻¹ IBA e 0 mg.l⁻¹ ácido bórico - controle
- T2: 2000 mg.l⁻¹ IBA (solução)
- T3: 4000 mg.l⁻¹ IBA (solução)
- T4: 2000 mg.l⁻¹ IBA + 150 mg.l⁻¹ ácido bórico (solução)
- T5: 4000 mg.l⁻¹ IBA + 150 mg.l⁻¹ ácido bórico (solução)
- T6: 150 mg.l⁻¹ ácido bórico (solução)
- T7: 2000 mg.l⁻¹ IBA (talco)
- T8: 4000 mg.l⁻¹ IBA (talco)

Foram utilizados ácido indol butírico e ácido bórico para análise (P.A.), dos Laboratórios Vetec-Química Fina Ltda e Reagen-Quimibrás Indústrias Químicas S. A., respectivamente. O talco industrial empregado é produto inerte, do Laboratório Bond Carneiro & Cia Ltda.

Uma vez plantadas em bandejas de enraizamento, as estacas foram mantidas sob nebulização intermitente, em casa de vegetação da Embrapa Florestas, localizada em Colombo, PR. Aos 60 dias, foram avaliadas as porcentagens de estacas enraizadas, estacas com calos, estacas vivas e estacas mortas.

Para o estudo anatômico, foram utilizadas secções de 2cm retiradas da base das estacas, submetidas aos tratamentos T1 e T3, ambas com raízes desenvolvidas, fixadas em solução de formol, ácido acético e álcool etílico (F.A.A. 70). Cortes transversais foram feitos na região de formação das

raízes adventícias. O procedimento seguiu as técnicas usuais de histologia vegetal para emblocamento em historresina e corte à mão livre, corado com azul de toluidina 0,05%, em solução aquosa.

Para as fotomicrografias, foi utilizado microscópio Zeiss Standart 20, acoplado com máquina fotográfica Olympus BX 40.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com oito tratamentos, cinco repetições e dez estacas por unidade experimental, num total de 50 estacas por tratamento. Cada variável avaliada (porcentagens de estacas enraizadas, com calos, vivas e mortas) sofreu análise de variância monofatorial. Dentro de cada época, a homogeneidade das variâncias dos tratamentos foi testada pelo teste de Bartlett. As variáveis cujas variâncias se mostraram homogêneas tiveram as médias dos tratamentos testadas pelo teste de Fisher (F), enquanto as que apresentaram heterogeneidade ou tratavam-se de contagem, tiveram seus valores originais transformados, tomando-se $(x + 10)^{1/2}$, para posterior análise dos dados transformados. Quando os resultados revelaram existir diferenças significativas entre as médias dos tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O verão foi a época que apresentou a maior porcentagem de enraizamento, sendo que o número de estacas enraizadas nesta estação foi afetado pelos tratamentos. O tratamento T3 (IBA 4000mg.l⁻¹) foi o mais efetivo a induzir a formação do sistema radicial, com 28% de estacas enraizadas (Tab. 1). Este comportamento pode ser atribuído ao fato de que, no verão, os ramos apresentavam-se em pleno crescimento vegetativo, com grande emissão de gemas e folhas jovens, importantes fontes de auxina endógena. Não há dados de literatura que permitam comparações com outros resultados referentes à espécie.

Por ser um trabalho pioneiro com esta espécie nativa, pode-se considerá-la como de difícil enraizamento, uma vez que a associação do ácido bórico ao IBA não aumentou a porcentagem de enraizamento.

O uso de IBA na forma de talco, quando comparado com a aplicação em solução, não mostrou diferença significativa na concentração de 2000mg.l⁻¹, diferindo somente na concentração de 4000mg.l⁻¹.

O outono apresentou baixa porcentagem de enraizamento, sendo T3 o melhor, porém os tratamentos não apresentaram diferenças significativas.

Tabela 1: Comparação das porcentagens de estacas enraizadas de *Sapium glandulatum*, entre os diferentes tratamentos, nas quatro estações do ano. Dados são médias aritméticas e desvios padrões. Valores seguidos pela mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade (Dados transformados por $(x + 10)^{1/2}$).

Table 1: Comparison of the percentage of rooted cuttings of *Sapium glandulatum*, between the different treatments, at different seasons of the year. Data are arithmetic means and standard deviations. Values followed by the same letter in the columns do not differ significantly by the Tukey test, at the level of 5% of probability (Data transformed by $(x + 10)^{1/2}$).

Tratamentos	Estacas enraizadas (%)			
	Outono	Inverno	Primavera	Verão
T1	2 ± 4,5 a	0	0	10 ± 7,1 bcd
T2	4 ± 5,5 a	0	0	20 ± 7,1 abc
T3	8 ± 11 a	0	0	28 ± 4,5 a
T4	4 ± 8,9 a	0	0	6 ± 8,9 cd
T5	0 ± 7,1 a	0	0	24 ± 8,9 ab
T6	2 ± 4,5 a	0	0	4 ± 5,5 d
T7	0 ± 7,1 a	0	0	20 ± 7,1 abc

Com relação à mortalidade das estacas, a primavera foi a estação que apresentou maior porcentagem de estacas mortas, próxima a 100%. Porém, entre os tratamentos, não houve diferença significativa (Tab. 2). Após alguns dias da instalação do experimento na primavera, observou-se a abscisão das folhas deixadas nas estacas, o que pode ter influenciado este alto índice de mortalidade. Uma vez que as folhas são potentes regiões de síntese de auxinas, sua queda precoce pode, além de ter prejudicado o enraizamento, ter comprometido a sobrevivência das mesmas, através da escassez de açúcares e proteínas, dentre outros, substratos esses vitais para as reações metabólicas da estaca. MENETTI E NAGAI (1992) reportam, para o maracujazeiro-amarelo, que os melhores índices de enraizamento foram obtidos com estacas com folhas.

A análise anatômica foi realizada somente na época do verão, uma vez que esta foi a época mais promissora para o enraizamento.

O caule das estacas-controle (T1) apresentou crescimento secundário bem desenvolvido. Apesar da presença da periderme, o córtex persistiu, sendo formado por vários estratos de células parenquimáticas corticais e, entre estas, encontravam-se aglomerados de esclereídes, formando camadas descontínuas junto ao floema primário e às células corticais (Figs 1, 2).

Nas estacas tratadas com 4000 mg.l⁻¹ IBA (T3), observou-se a presença do câmbio e ausência da periderme. Abaixo da epiderme uniestratificada, vários estratos de colênquima foram encontrados. O parênquima cortical mostrou-se mais desenvolvido que nas estacas-controle e apresentou menor incidência de esclereídes, junto ao floema primário (Fig. 3). Nas estacas tratadas com IBA, ocorreu a emissão de raízes adventícias, próxima à região cambial (Fig. 4). Apesar de não ter sido estudada a ontogenia das raízes adventícias, vários estudos indicam que o sítio de formação dessas raízes, em estacas, ocorre nas células cambiais (WHITE & LOVELL 1984, DAVIS *et al.* 1989, HARTMANN *et al.* 1997).

As raízes adventícias apresentaram crescimento primário, sendo a epiderme uniestratificada e o córtex formado de células parenquimáticas com poucos espaços intercelulares. O cilindro central não apresentou medula, devido à estrutura tetraarca do xilema (Fig. 5).

A origem das raízes adventícias geralmente é endôgena, formando-se junto aos tecidos vasculares, crescendo através dos tecidos localizados ao redor do seu ponto de origem (ESAU 1974). Em estacas com quantidade considerável de tecidos lignificados, as raízes adventícias podem encontrar um obstáculo ao seu crescimento, representado por uma camada de esclerênquima contínua ao redor do tecido vascular,

Tabela 2: Comparação das porcentagens de estacas mortas de *Sapium glandulatum*, entre os diferentes tratamentos, nas quatro estações do ano. Dados são médias aritméticas e desvios padrões. Valores seguidos pela mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Table 2: Comparison of the percentage of the numbers of dead cuttings of *Sapium glandulatum*, between the different treatments, at different seasons of the year. Data are arithmetic means and standard deviations. Values followed by the same letter in the columns do not differ significantly by the Tukey test, at the level of 5% of probability.

Tratamentos	Estacas mortas (%)			
	Outono	Inverno	Primavera	Verão
T1	70 ± 10 ab	4 ± 5,5 a	94 ± 8,9 a	60 ± 10 a
T2	48 ± 8,4 c	10 ± 7,1 a	96 ± 5,5 a	64 ± 21,9 a
T3	54 ± 5,5 bc	14 ± 8,9 a	96 ± 5,5 a	62 ± 11 a
T4	66 ± 15,2 abc	4 ± 5,5 a	96 ± 5,5 a	76 ± 13,4 a
T5	70 ± 7,1 ab	8 ± 13 a	86 ± 5,5 a	68 ± 14,8 a
T6	80 ± 10 a	12 ± 11 a	96 ± 5,5 a	78 ± 13 a
T7	66 ± 5,5 abc	10 ± 12,2 a	98 ± 4,5 a	58 ± 19,2 a
T8	62 ± 8,4 abc	4 ± 5,5 a	98 ± 4,5 a	74 ± 18,2 a

que pode desviar a raiz para outro sentido ou até mesmo inibir seu desenvolvimento (HARTMANN *et al.* 1997).

Com a aplicação da auxina, observou-se maior desenvolvimento do córtex e conseqüente aumento de volume desta região, o que pode ter influenciado a desestruturação dos aglomerados de esclereídes e a formação da periderme, facilitando o desenvolvimento dos primórdios radiciais.

Segundo SILVA (1984) e TAIZ E ZEIGER (1998), as auxinas estimulam a divisão celular nos meristemas primários e secundários, contribuindo para o subseqüente alongamento das células, em virtude de sua influência sobre as paredes celulares que se tornam

plásticas e facilmente extensivas. Também promovem a proliferação do córtex, floema e câmbio, resultando na interrupção do tecido esclerenquimático, se esse for contínuo (HARTMANN *et al.* 1997).

Apesar do desenvolvimento do córtex causado pela ação do IBA, a taxa de enraizamento das estacas tratadas ainda foi baixa, indicando que existem outros fatores que atuam no desenvolvimento das raízes adventícias, além de barreiras mecânicas como a presença de esclereídes e periderme.

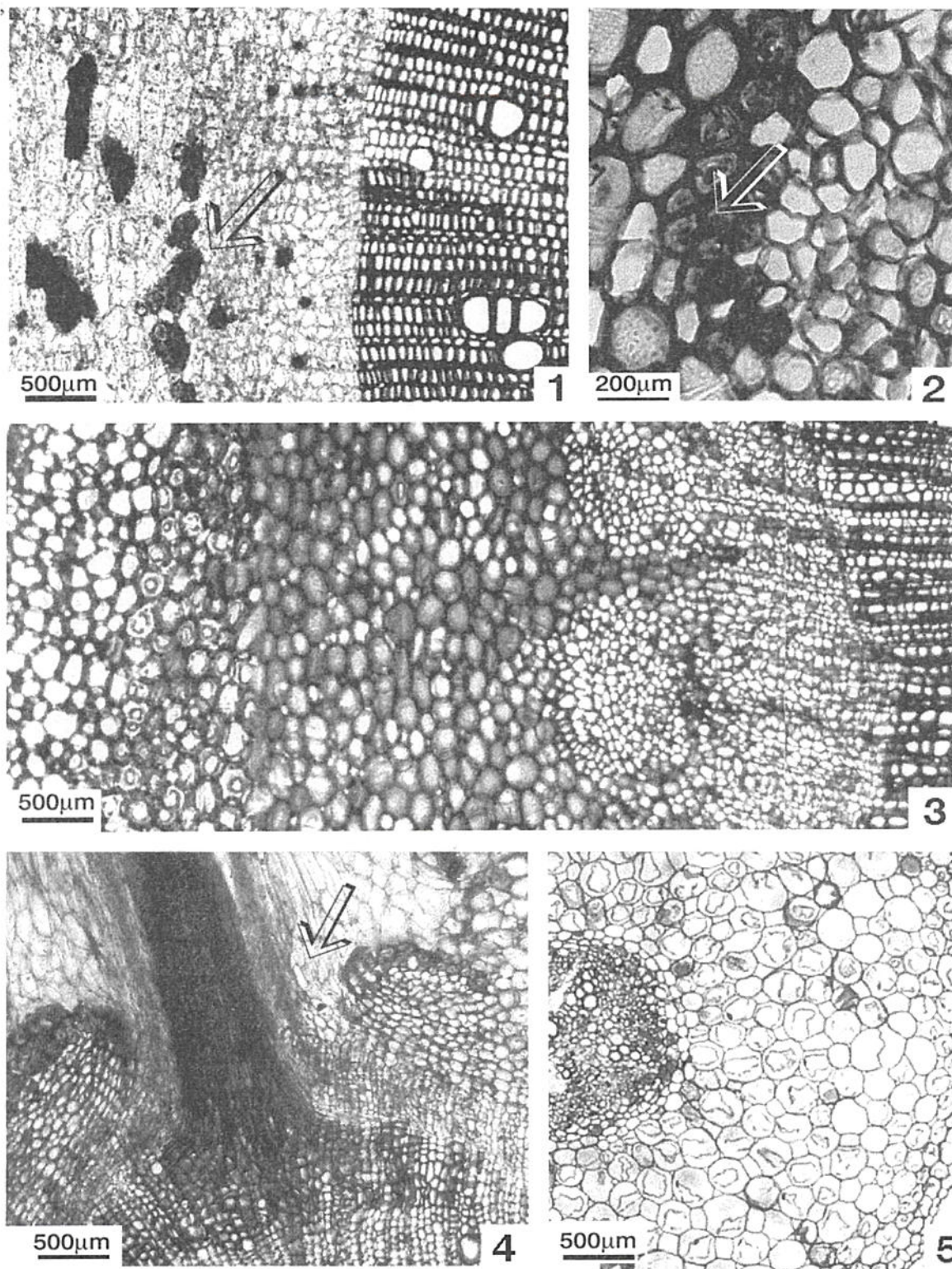
Os resultados obtidos neste trabalho evidenciam a necessidade de estudos posteriores, a fim de viabilizar a prática de propagação vegetativa com esta espécie.

AGRADECIMENTOS

A Vero Oscar Cardoso dos Santos, Carlos Amilcar de Carvalho Silva e Paulino Graff, da Embrapa Florestas, pela ajuda constante na coleta de material e instalação dos experimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DAVIS, T.D., HAISSIG, B.F. & SANKHA, N. 1989. *Adventitious root formation*. Oregon, Dioscorides Press. 315 p.
- EDWARDS, R.A. & THOMAS, M.B. 1980. Observations on physical barrier to root formation in cuttings. *The Plant Propagator* 26: 6-8.
- ESAU, K. 1974. *Anatomia das plantas com sementes*. São Paulo, Edgard Blücher. 293 p.
- HARTMANN, H.T., KESTER, D.E., DAVIS JR., F.T. & GENEVE, R.L. 1997. *Plant propagation: principles and practices*. 6 ed. New York, Englewood Clippings. 770 p.
- KERSTEN, E. 1990. *Efeito do boro, zinco e ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de dois cultivares de ameixeira (Prunus salicina, Lindl.)*. Piracicaba. 109 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz, Universidade de São Paulo.
- LORENZI, H. 1992. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Nova Odessa, Plantarum. 352 p.
- MENETTI, L.M.M. & NAGAI, V. 1992. Enraizamento de estacas de sete espécies de maracujazeiro. *Revista Brasileira de Fruticultura* 14 (2): 163-168.
- ONO, E.O. 1994. *Efeitos de reguladores de crescimento e ácido bórico, no enraizamento de estacas caulinares de alguns cultivares de kiwi (Actinidia chinensis Planch.)*. Botucatu. 240 p. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista.
- REITZ, R., KLEIN, R. & REIS, A. 1983. Projeto madeira do Rio Grande do Sul. *Sellowia* 34/35: 1-525.
- RIBAS, K.C. 1997. *Interações entre auxinas e co-fatores do enraizamento na promoção do sistema radicular, em estacas de Eucalyptus grandis W. Hill ex Maiden*. Botucatu. 150 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.
- SANCHOTENE, M.C.C. 1985. *Frutíferas nativas úteis à fauna na arborização urbana*. Porto Alegre, Fundação Educacional Padre Landell de Moura. 311 p.
- SILVA, I.C. 1984. *Propagação vegetativa de Ocotea puberula Benth & Hook e Ocotea pretiosa Nees pelo método de estaquia*. Curitiba. 110 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.
- TAIZ, L. & ZEIGER, E. 1998. *Plant physiology*. 2 ed. Massachusetts, Sinauer Associates. 792 p.
- WHITE, J. & LOVELL, P.H. 1984. The anatomy of root initiation in cuttings of *Griselinia littoralis* and *Griselinia lucida*. *Annals of Botany* 54: 7-20.



Figuras 1-5: Secções transversais de estacas de *Sapium glandulatum*. Fig. 1- Região cortical do caule da estaca-control (T1), indicando um agrupamento de esclereídes (→); Fig. 2- Detalhe do agrupamento de esclereídes (→) entre as células parenquimáticas do córtex do caule da estaca-control (T1); Fig. 3- Região cortical do caule da estaca tratada com 4000mg.l⁻¹ IBA (T3), sem esclereídes; Fig. 4- Formação de raiz adventícia, a partir da região cambial na estaca tratada com 4000mg.l⁻¹ IBA (T3), indicando o primórdio radicial (→); Fig. 5- Raiz adventícia da estaca tratada com 4000mg.l⁻¹ IBA (T3).

Figures 1-5: Transverse sections of *Sapium glandulatum* cuttings. Fig. 1- Cortical region of the stem of a control cutting (T1), showing a group of sclereids (→); Fig. 2- Cortical region of the stem of a control cutting (T1), showing a group of sclereids (→) among parenchyma cells; Fig. 3- Cortical region of the stem of a cutting treated with 4000mg.l⁻¹ IBA (T3), without sclereids; Fig. 4- Formation of adventitious root from the cambial region of a cutting treated with 4000mg.l⁻¹ IBA (T3), showing a root primordium (→); Fig. 5- Adventitious root from a cutting treated with 4000mg.l⁻¹ IBA (T3).