

**PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DO CAFEIEIRO**  
**(*Coffea arabica* L.)**

**ADRIANA MADEIRA SANTOS JESUS**

**2003**

**ADRIANA MADEIRA SANTOS JESUS**

**PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DO CAFEIEIRO**  
*(Coffea arabica L.)*

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para obtenção do título de "Doutor".

Orientador

Prof. Dr. Samuel Pereira de Carvalho

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2003

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de  
Processos Técnicos da**

**Biblioteca Central da UFLA**

Jesus, Adriana Madeira Santos

Propagação vegetativa do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) / Adriana Madeira Santos Jesus.

-- Lavras : UFLA, 2003.

173 p. : il.

Orientador: Samuel Pereira de Carvalho.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Café. 2. Enraizamento. 3. Regulador de crescimento. 4. Micropropagação.  
5. Crescimento. 6. Melhoramento genético. I. Universidade Federal de Lavras.  
II. Título.

CDD-633.733

**ADRIANA MADEIRA SANTOS JESUS**

**PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DO CAFEIEIRO**  
*(Coffea arabica L.)*

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 30 de setembro de 2003

Prof. Dr. Antônio Nazareno Guimarães Mendes UFLA

Prof. Dr. Moacir Pasqual UFLA

Dr. Leonardo Ferreira Dutra Pesquisador/CNPq

Dr. Wander E. de Bastos Andrade Pesquisador/PESAGRO-RIO

Prof. Dr. Samuel Pereira de Carvalho

UFLA

(Orientador)

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

## **DEDICO**

A meu esposo, José Carlos.

Aos meus filhos, Lara Thaís, Lucas e Ludmila.

## **OFEREÇO**

A meu pai, Osmar

A minha mãe, Cirlene

Aos meus irmãos, Júnior e Cristina.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus.

À Universidade Federal de Lavras.

À Coordenadoria de Pós-Graduação (CPG) e ao Departamento de Agricultura (DAG), pela possibilidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnologia (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Dr. Samuel Pereira de Carvalho, pelo apoio, amizade e pelo exemplo de vida e de profissional.

Ao Prof. Dr. Antônio Nazareno Guimarães Mendes, que sempre acreditou neste trabalho, agradeço o apoio, o incentivo e as valiosas contribuições dadas como co-orientador.

Ao Prof. Dr. Moacir Pasqual, pelos ensinamentos e contribuições como participante do comitê de orientação.

Aos pesquisadores Dr. Leonardo Ferreira Dutra e Dr. Wander Eustáquio de Bastos Andrade, pelas contribuições como participantes da banca examinadora.

Aos professores Dr. Evaristo Mauro de Castro e Dra. Ângela Maria Soares, pela colaboração e ensinamentos, e aos demais professores do Curso de

Pós-Graduação em Agronomia, Genética e Fisiologia Vegetal pelos conhecimentos transmitidos.

Ao professor Dr. Rubens José Guimarães, ao pesquisador Dr. Carlos Alberto Spaggiari Souza e aos funcionários do setor de cafeicultura, pelo apoio e colaboração dados durante a realização deste trabalho.

Aos técnicos do laboratório de Cultura de Tecidos, Antônio Claret e Vantuil, pela colaboração, cordialidade e amizade dedicados durante todo o curso.

Ao meu esposo, Prof. Dr. José Carlos dos Santos Jesus, pelo companheirismo e apoio inestimáveis dados durante a realização deste trabalho.

Aos meus pais, pela fé e amor inabaláveis.

À minha família pela força e incentivo.

Aos colegas de curso, especialmente à Mychelle, Maria das Dores, Elda, Maria Aparecida, Fábio, Alexandrino e Adriano pela amizade e convívio.

*“Feliz é a pessoa que acha a sabedoria  
e que consegue compreender as coisas”*

Provérbios, 3: 13

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS</b> .....	i
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	ii
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	iii
<b>RESUMO</b> .....	ix
<b>ABSTRACT</b> .....	xi
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	1
1 Introdução Geral.....	1
2 Referencial Teórico .....	4
2.1 Gênero <i>Coffea</i> .....	4
2.2 Melhoramento em <i>Coffea</i> .....	7
2.3 Características do crescimento e do desenvolvimento do cafeeiro.....	9
2.4 Características das cultivares utilizadas neste estudo.....	10
3. Referências Bibliográficas.....	12
<b>CAPÍTULO 2</b> Propagação do cafeeiro ( <i>Coffea arabica</i> L.) por meio de enraizamento de estacas caulinares.....	14
1 Resumo.....	15
2 Abstract.....	16
3 Introdução.....	17
4 Referencial Teórico.....	19
4.1 Propagação vegetativa a partir de enraizamento adventício em estacas.....	19
4.2 Uso de indução radicular por aquecimento basal no enraizamento de estacas.....	20

4.3	Uso de reguladores de crescimento no enraizamento de estacas.....	23
4.4	Uso de sacarose no enraizamento de estacas.....	25
4.5	Enraizamento de estacas de <i>Coffea canephora</i> .....	27
4.6	Enraizamento de estacas de <i>Coffea arabica</i> .....	29
4.7	Aspectos anatômicos do enraizamento adventício.....	31
4.7.1	Origem do primórdio radicular.....	31
4.7.2	Barreiras à emergência do primórdio radicular.....	35
4.8	Medição de raízes por meio de imagens digitalizadas.....	38
5	Material e Métodos.....	41
6	Resultado e Discussão.....	48
7	Conclusões.....	108
8	Referências Bibliográficas.....	109
<b>CAPÍTULO 3</b> Micropropagação do cafeeiro ( <i>Coffea arabica</i> L.) com BAP em meio de pré-cultivo e diferentes concentrações de BAP e TDZ em meio de subcultivo.....		
		126
1	Resumo.....	127
2	Abstract.....	128
3	Introdução.....	129
4	Referencial Teórico.....	131
5	Material e Métodos.....	139
6	Resultado e Discussão.....	141
7	Conclusões.....	153
8	Referências Bibliográficas.....	154
<b>ANEXOS</b> .....		
		161
<b>APÊNDICE</b> .....		
		171

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AIB	Ácido Indol Butírico
aq=0	Sem aquecimento basal
aq=1	Com aquecimento basal
BAP	benzilaminopurina
CV	Coefficiente de variação
MS	Meio de cultura de Murashige e Skoog
NB >1	Número de brotações maiores que 1 centímetro
NTB	Número total de brotações
PMFB	Peso da matéria fresca das brotações
PMSB	Peso da matéria seca das brotações
PMSR/PMSPA	Relação entre o peso da matéria seca das raízes e o peso da matéria seca da parte aérea
R <sup>2</sup>	Coefficiente de determinação
sac=0	Sem fornecimento exógeno de sacarose
sac=1	Com fornecimento exógeno de sacarose
TDZ	N-phenil-N-1,2,3-thiadiazol-5-iluréia
AIA	ácido indolacético
ANA	ácido naftalenoacético
C/N	relação entre carbono e nitrogênio
Ppm	partes por milhão

## LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Porcentagem de estacas enraizadas aos 90 dias, de mudas formadas, de pegamento, de enraizamento total e porcentagem estimada de mudas formadas para as concentrações de máxima resposta AIB. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	64
2	Número médio de raízes por muda de cafeeiro 'Acaiá', em função do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	73
3	Peso da matéria seca da parte aérea de mudas de cafeeiro 'Acaiá' em função do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	84
4	Número de feixes vasculares, espessura do cilindro vascular, espessura do córtex e espessura da epiderme em micrômetro ( $\mu\text{m}$ ) de raízes de mudas de cafeeiro 'Acaiá' e 'Rubi' obtidas por estaquia caulinar e por semeadura. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	98

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Porcentagem de estacas calejadas, aos 45 dias, de cafeeiro 'Acaiá', em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	50
2	Porcentagem de estacas calejadas, aos 45 dias, de cafeeiro 'Rubi' em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose, na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	50
3	Porcentagem de estacas enraizadas, aos 90 dias, de cafeeiro 'Acaiá' em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	52
4	Porcentagem de estacas enraizadas, aos 90 dias, de cafeeiro 'Rubi' em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	52
5	Porcentagem total, aos 180 dias, de estacas enraizadas de cafeeiro 'Acaiá' em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	55
6	Porcentagem total, aos 180 dias, de estacas enraizadas de cafeeiro 'Rubi' em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	55

Figura		Página
7	Número médio de mudas formadas de cafeeiro ‘Acaiá’ em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	62
8	Número médio de mudas formadas de cafeeiro ‘Rubi’ em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA- Lavras, MG, 2003.....	62
9	Comparações entre as porcentagens de estacas calejadas enraizadas aos 90 dias e 180 dias de mudas formadas e porcentagens de estacas vivas ao final do estudo para ‘Acaia’. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	66
10	Comparações entre as porcentagens de estacas calejadas enraizadas aos 90 dias e 180 dias de mudas formadas e porcentagens de estacas vivas ao final do estudo para ‘Rubi’. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	67
11	Número médio de raízes por muda de cafeeiro ‘Acaiá’ em função das concentrações de AIB e do aquecimento basal na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	72
12	Número médio de raízes por muda de cafeeiro ‘Acaiá’ em função das concentrações de AIB e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	72
13	Número médio de raízes por muda de cafeeiro ‘Rubi’ em função das concentrações de AIB, aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA- Lavras, MG, 2003.....	74
14	Aspectos das raízes de estacas de <i>Coffea arabica</i> submetidas a aquecimento basal. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	75

Figura	Página
15 Aspectos das raízes de estacas de <i>Coffea arabica</i> não submetidas a aquecimento basal. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	77
16 Número médio de raízes das estacas aos 90 dias e número médio de raízes das mudas formadas para a cultivar Acaiaí. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	78
17 Número médio de raízes das estacas aos 90 dias e número médio de raízes das mudas formadas para a cultivar Rubi. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	79
18 Peso da matéria seca das raízes de mudas de cafeeiro ‘Acaiaí’ em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	81
19 Peso da matéria seca das raízes de cafeeiro ‘Rubi’ em função das concentrações de AIB e do aquecimento basal na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	81
20 Peso da matéria seca da parte aérea de mudas de cafeeiro ‘Acaiaí’ em função das concentrações de AIB e do aquecimento basal. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	85
21 Peso da matéria seca da parte aérea de mudas de cafeeiro ‘Rubi’ em função da concentração de AIB e do aquecimento basal. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	87
22 Mudas formadas de cafeeiro ‘Acaiaí’ em função do aquecimento basal na concentração de AIB de melhor resposta para a variável peso da matéria seca da parte aérea. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	88
23 Mudas formadas de cafeeiro ‘Rubi’ em função do aquecimento basal na concentração de AIB de melhor resposta para a variável peso da matéria seca da parte aérea. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	89

Figura	Página	
24	Relação PMSR/PMSPA de mudas de cafeeiro ‘Acaiá’ em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	91
25	Relação PMSR/PMSPA de mudas de cafeeiro ‘Rubi’ em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	92
26	Seções transversais da base de estacas caulinares de <i>Coffea arabica</i> cultivar Acaiá em objetiva de 10X (1) e em objetiva de 20X (2). (a) = cortéx; (b) = epiderme; (c) = anel esclerenquimático perivasculares; (d) = floema; (e) = xilema. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	94
27	Seções transversais da base de estacas caulinares de <i>Coffea arabica</i> cultivar Rubi em objetiva de 10X (1) e em objetiva de 20X (2). (a) = cortéx; (b) = epiderme; (c) = anel esclerenquimático perivasculares; (d) = floema; (e) = xilema. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	95
28	Seções transversais da base de estacas caulinares de <i>Coffea sp.</i> Em (1) desenvolvimento do primórdio radicular. Em (2) (a) = espaço entre as fibras do anel esclerenquimático; (b)= detalhe da região de origem do primórdio radicular próximo à região cambial. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	97
29	Seções transversais de raízes de <i>Coffea arabica</i> . Em (1) (a) = cortéx; (b) = epiderme; (c) = cilindro vascular. Em (2) (d) = periciclo; (e) = vasos vasculares; (f) endoderme. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	99
30	Comprimento de raízes com diâmetros menores que 2 mm, em metros, de mudas de cafeeiro ‘Acaiá’ e ‘Rubi’ obtidos por meio de enraizamento de estacas e por semeadura. UFLA., Lavras, MG. 2003.....	100

Figura	Página
31 Comprimento de raízes com diâmetros maiores que 2 mm, em metros, de mudas de cafeeiro ‘Acaiá’ e ‘Rubi’ obtidas por meio de enraizamento de estacas e por semeadura. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	101
32 Comprimentos totais das raízes de mudas de cafeeiro ‘Acaiá’ e ‘Rubi’ obtidos por meio de enraizamento de estacas e por semeadura. UFLA. Lavras, MG, 2003.....	102
33 Peso da matéria seca das raízes de mudas de cafeeiro ‘Acaiá’ e ‘Rubi,’ obtidos por meio de enraizamento de estacas e por semeadura. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	102
34 Aspectos do sistema radicular de mudas de cafeeiro ‘Acaiá’ obtidas por meio de enraizamento de estacas caulinares. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	104
35 Aspectos do sistema radicular de mudas de cafeeiro ‘Acaiá’ obtidas por meio de enraizamento de estacas caulinares. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	105
36 Aspectos do sistema radicular de mudas de cafeeiro ‘Rubi’ obtidas por meio de enraizamento de estacas caulinares. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	106
37 Aspectos do sistema radicular de mudas de cafeeiro ‘Rubi’ obtidas por meio de enraizamento de estacas caulinares. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	107
38 Número total de brotações em segmentos nodais de cafeeiro pré-cultivados em meio MS ou MS+BAP e subcultivados em meio com diferentes concentrações de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	142
39 Número de brotações maiores que 1cm em segmentos nodais de cafeeiro pré-cultivados em meio MS ou MS+BAP e subcultivados em meio com diferentes concentrações de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	143

Figura	Página
40	Peso da matéria fresca de brotações de segmentos nodais de cafeeiro pré-cultivados em meio MS ou MS+BAP e subcultivados em meio com diferentes concentrações de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2003..... 144
41	Peso da matéria seca de brotações de segmentos nodais de cafeeiro pré-cultivados em meio MS ou MS+BAP e subcultivados em meio com diferentes concentrações de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2003..... 145
42	Número total de brotações de cafeeiro em segmentos nodais pré-cultivadas em meio MS ou MS+BAP e subcultivadas em meio com diferentes concentrações de TDZ. UFLA- Lavras, MG, 2003..... 147
43	Número de brotações maiores que 1 cm de segmentos nodais de cafeeiro subcultivados com diferentes concentrações de TDZ e pré-cultivados em meio MS ou MS+BAP ( $6 \text{ mg.L}^{-1}$ ). UFLA, Lavras, MG, 2003..... 148
44	Peso da matéria fresca de brotações em segmentos nodais de cafeeiro pré-cultivadas em meio MS ou MS+BAP e subcultivadas em meio com diferentes concentrações de TDZ. UFLA, Lavras, MG, 2003..... 149
45	Peso da matéria seca das brotações em segmentos nodais de cafeeiro subcultivados com diferentes concentrações de TDZ e pré-cultivados em meio MS ou MS+BAP ( $6 \text{ mg.L}^{-1}$ ). UFLA, Lavras , MG, 2003..... 150

## RESUMO

JESUS, Adriana Madeira Santos. **Propagação vegetativa do cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2003. 173p. Tese (Doutor em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

A inexistência de um protocolo para multiplicação assexuada de *Coffea arabica* em escala comercial tem sido a maior restrição ao emprego da propagação vegetativa como estratégia para o uso de híbridos F<sub>1</sub> de cafeeiros obtidos pelo melhoramento genético. Buscando-se uma metodologia que permita aumentar a eficiência da clonagem de *Coffea arabica*, foram conduzidos experimentos no Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG. Uma alternativa para a propagação vegetativa é o enraizamento de estacas caulinares. Utilizaram-se estacas de cafeeiros das cultivares Acaiaí Cerrado MG 1474 e Rubi MG 1192. Testou-se a eficiência do aquecimento do leito de enraizamento, do fornecimento exógeno de sacarose (30 g.L<sup>-1</sup>) e de seis concentrações de AIB (0; 2.000; 4.000; 6.000; 8.000 e 10.000 mg.L<sup>-1</sup>) para o enraizamento das estacas e para a formação das mudas. O substrato utilizado para o enraizamento foi uma mistura de areia lavada e vermiculita na proporção de 1:1 e para a formação das mudas foi o substrato comercial Bioplant®. Os resultados mostraram que o fornecimento exógeno de sacarose não apresentou efeito positivo para nenhuma das variáveis analisadas. O aquecimento do leito de enraizamento não influenciou a porcentagem de formação de calo para ‘Acaiaí’ mas foi efetivo para a ‘Rubi’. O aquecimento basal associado com o AIB não aumentou a porcentagem total de estacas enraizadas para a ‘Rubi’ e foi desfavorável para a ‘Acaiaí’, mas aumentou o número de raízes, o peso da matéria seca das raízes e da parte aérea das mudas das duas cultivares. Foram realizados cortes histológicos em estacas caulinares, os quais mostraram não existir barreiras anatômicas ao enraizamento adventício. Cortes em estacas enraizadas mostraram que a origem do primórdio radicular foi próxima aos tecidos vasculares. Cortes histológicos nas raízes formadas nas estacas e em raízes de mudas obtidas por semeadura confirmaram que elas apresentam as mesmas estruturas primárias. Um estudo preliminar dos sistemas radiculares de mudas obtidas por meio de estacas e de mudas de semeadura mostraram que o sistema radicular das mudas de estacas possui maior comprimento total das raízes. Outra alternativa para a clonagem de *Coffea arabica* é a multiplicação “in vitro”, que ainda possibilita a obtenção de grande

---

\* Comitê Orientador: Samuel Pereira de Carvalho (Orientador), Antônio Nazareno Guimarães Mendes – UFLA.

número de plantas em curto espaço de tempo. Segmentos nodais de cafeeiro 'Caturra Amarelo' estabelecidos "in vitro" foram pré-cultivados em meio MS sem regulador de crescimento ou em MS acrescido de 6 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, para avaliação do efeito desse regulador no subcultivo dos explantes. Após 180 dias, os explantes foram inoculados em meio de cultivo MS acrescido de 0, 6, 9, 12 e 15 mg.L<sup>-1</sup> de BAP (experimento 1) e de 0; 0,05; 0,15; 0,45 e 1,35 mg.L<sup>-1</sup> de TDZ (experimento 2). Verificou-se que há efeito residual do BAP adicionado ao meio de pré-cultivo.

## ABSTRACT

JESUS, Adriana Madeira Santos. **Vegetative propagation of Coffee (*Coffea arabica*. L).** 2003. 173p. Thesis (Doctor of Science in Agronomy/Agriculture) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.\*

The inexistence of a protocol for the asexual multiplication of *Coffea arabica* in a commercial scale has been one of the major restrictions for the vegetative propagation as a strategy to use F<sub>1</sub> hybrids obtained through genetic improvement. With the objective of to obtain a methodology that permits an improvement in the *Coffea arabica* cloning efficiency, experiments were conducted in the Department of Agriculture of the Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG. An alternative to vegetative propagation is the rooting of cuttings. Cuttings from Acaiá Cerrado MG 1474 and Rubi MG 1192 coffee cultivars were used. The efficiency of root bed heating, exogenous sucrose supply (30 g.L<sup>-1</sup>), and six concentrations of IBA (0; 2.000; 4.000; 6.000; 8.000 e10.000 mg.L<sup>-1</sup>) on the rooting of cuttings and formation of seedlings was tested. A mixture of washed sand and vermiculite (1:1) and Bioplant® commercial substrate were used as substrate and for the formation of seedlings, respectively. The results demonstrated that the exogenous supply of sucrose did not present a positive effect on any of the analyzed variables. The root bed heating did not influence the percentage of basal callus formation for the ‘Acaiá’ but was effective for the ‘Rubi’. Bed heating associated with IBA did not increase the total percentage of ‘Rubi’ rooted cuttings and was unfavorable for the ‘Acaiá’. However, it increased the number of roots, root and shoot dry matter weight in both cultivar seedlings. Histological cuts in stem cuttings demonstrated that there aren’t anatomic barriers for the adventitious rooting. Cuts in rooted cuttings showed that the origin of the root primordial was close to the vascular tissues. Histological cuts in the cutting roots and in roots of seedlings confirmed that they present the same primary structures. A preliminary study of the root systems of seedlings obtained through cutting and through seeds showed that the root systems of the latter have a high total root length. Another alternative to clonie *Coffea arabica* is the ‘*in vitro*’ multiplication that makes possible a short-term obtainment of a great number of plants. ‘*In vitro*’ nodal segments of the ‘Caturra Amarelo’ coffee plant were pre-cultivated in MS medium without growth regulator or in MS medium with 6 mg.L<sup>-1</sup> BAP to

---

\* Guidance Committee: Samuel Pereira de Carvalho (Major Professor), Antônio Nazareno Guimarães Mendes – UFLA.

evaluate the effect of BAP on the sub-cultivation of the explants. After 180 days, the explants were inoculated in MS medium with 0, 6, 9, 12, and 15 mg.L<sup>-1</sup> BAP (experiment 1) and 0, 0.05, 0.15, 0.45, and 1.35 mg.L<sup>-1</sup> TDZ (experiment 2). It was verified that there is a residual effect of BAP when added to the pre-cultivation medium.

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O café é um dos produtos agrícolas mais importantes do mundo. É produzido e exportado por mais de cinquenta países em desenvolvimento da América Latina, África e Ásia, contribuindo com cerca de doze a treze bilhões de dólares anualmente para a economia desses países. No Brasil, o valor anual do agronegócio do café situa-se ao redor de 3 a 4 bilhões de dólares por ano. Além da sua importância econômica, a cafeicultura tem papel fundamental como alocadora de mão-de-obra. Estima-se que a cafeicultura fornece empregos diretos, em tempo integral, para 25 milhões de pessoas no mundo. Levando em consideração os serviços e atividades relacionados com a indústria (processamento, comercialização, torrefação e transporte), este número, incluindo membros das famílias, sobe para cem milhões de pessoas. No Brasil, aproximadamente dez milhões de pessoas envolvem-se direta ou indiretamente com o café em todos os segmentos do setor (Mendes & Guimarães, 1999; Silva & Berbet, 1999).

O gênero *Coffea* reúne em torno de oitenta espécies, originárias das regiões central e equatorial da África, de Madagascar e ilhas do Oceano Índico próximas à África. Dentre as espécies conhecidas, *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* L. Pierre são as mais utilizadas, pois representam praticamente todo café produzido e comercializado no mundo, com cerca de 70% e 30%, respectivamente.

No Brasil, cerca de 82% da população de cafeeiros são provenientes de lavouras formadas com cultivares da espécie *Coffea arabica* e 18% de cultivares da espécie *Coffea canephora* (Melo et al., 1998). São pelo menos 1.700 municípios cafeeiros, com 300 mil cafeicultores que envolvem-se diretamente na produção, com propriedades agrícolas distribuídas principalmente na região

centro-sul, nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo e Paraná, sendo o Sul de Minas, o Cerrado Mineiro, o Alto Paranaíba, o Triângulo Mineiro e a Mogiana Paulista as regiões que tradicionalmente produzem o café de melhor qualidade no país.

A partir da hibridação e seleção em germoplasma de *Coffea arabica* L., necessita-se de aproximadamente 30 anos para dispor-se de uma nova cultivar. A longevidade do cafeeiro transpõe 20 anos ou mais de colheitas com valor econômico, dependendo dos tratos culturais dispensados. Um ciclo de produção tão longo torna igualmente necessário um período experimental de vários anos consecutivos na avaliação da produção para se estimar o potencial produtivo total de progênies de cafeeiro, constituindo-se na principal dificuldade para o seu melhoramento genético.

Apesar do tempo e dos recursos despendidos, os programas de melhoramento do cafeeiro no Brasil têm alcançado sucesso na obtenção de cultivares produtivas, elevando em cerca de 295% a produtividade das atuais cultivares em relação a da cultivar Typica, à primeira a ser plantada no Brasil (Carvalho et al., 1981). Contudo, nos últimos anos agravaram-se os problemas como doenças, pragas, nematóides, maior exigência do mercado consumidor quanto à qualidade do produto obtido, etc. A propagação vegetativa surge como alternativa, a curto prazo, para a solução desses problemas.

Embora os resultados encontrados na literatura sejam muito contraditórios, a existência de heterose foi relatada em *Coffea arabica*, o que despertou o interesse pela propagação vegetativa de híbridos  $F_1$ , em escala comercial, visando à exploração do vigor híbrido para a produtividade. O que se busca hoje é a melhor produtividade do híbrido, Isso é possível quando se consegue identificar um par de linhagens de bom desempenho “per se” e que genotípicamente se complementem bem (Bueno et al., 2001). Pode-se ainda introduzir, nesses híbridos, caracteres de interesse, como a resistência à

ferrugem, resistência ao bicho mineiro, porte baixo ou uniformidade de maturação de frutos.

A clonagem de híbridos F<sub>1</sub> de *Coffea arabica*, via propagação vegetativa, pode representar uma revolução no cultivo do cafeeiro nos próximos anos.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Gênero *Coffea*

O cafeeiro é uma planta perene da classe dicotiledônea, subtribo *Caffeinae*, tribo *Coffeae*, família Rubiaceae e gênero *Coffea*. Aproximadamente 100 espécies de *Coffea* já foram descritas (pelo menos sessenta, considerando-se alguma controvérsia existente na literatura), de acordo com a classificação feita por Chevalier, em 1942, citado por Mendes & Guimarães (1999). Já a classificação de cafeeiros realizada por Bridson (1987) indica a existência de cerca de 30 espécies presentes na ilha de Madagascar e outras 30 espécies no continente africano. Diversos estudos relacionados à variabilidade genética para a resistência às principais pragas do cafeeiro têm sido realizados com boa parte deste material. Dentre as espécies de cafeeiro, *Coffea arabica* e *Coffea canephora* são as únicas que têm seu produto comercial cotado internacionalmente, comumente designadas por “café arábica” e “café robusta”, respectivamente.

A espécie *Coffea arabica* é originalmente do sudoeste da Etiópia, sudeste do Sudão e norte do Quênia, em região restrita e marginal às demais espécies. A faixa de altitude correspondente está entre 1.000 e 2.000 metros. Atualmente, esta espécie distribui-se amplamente em regiões de altitudes mais elevadas e temperaturas mais amenas, entre 18°C e 21°C, no continente americano e em algumas regiões da África.

A espécie *Coffea arabica* foi introduzida no continente americano vinda do Yêmem via Java e países baixos (Holanda) no século XVIII. Evidências históricas sugerem que a base da população descende de algumas poucas árvores. A cultivar *Typica*, originalmente introduzida no Pará em 1727, foi praticamente a única explorada comercialmente até meados do século XIX. As

primeiras lavouras implantadas no Brasil tiveram origem a partir das sementes e mudas obtidas de uma única planta da variedade *Typica* existente no Jardim Botânico de Amsterdam, na Holanda, de onde alguns exemplares foram trazidos para as guianas, primeiro a Holandesa e depois a Francesa, de onde originou-se nosso café. Do Pará, já nos anos seguintes, sementes foram levadas para o estado do Maranhão e, posteriormente à Bahia (por volta de 1770). Em 1774, duas mudas do Maranhão foram levadas para o estado do Rio de Janeiro.

Supõe-se que em 1770 tenha ocorrido a introdução da cultivar *Typica* no estado de São Paulo e, posteriormente, nos estados de Minas Gerais e Paraná. Durante todas as etapas no processo de dispersão do cafeeiro no Brasil sempre foram usadas pequenas quantidades de sementes e de mudas da cultivar *Typica* (Guimarães et al., 2002). Assim, a base genética do *Coffea arabica* no Brasil pode ser muito estreita, apesar do esforço dos programas de melhoramento em ampliar essa base genética por meio de materiais introduzidos e representa somente uma pequena proporção do potencial de variabilidade disponível dentro conjunto gênico de *Coffea arabica*. A autogamia natural da espécie, junto com a visão histórica da sua limitada base genética, tem instigado várias expedições para coleta de materiais e algumas coleções de germoplasmas “in vivo” de café têm sido estabelecidas (Carvalho & Krug, 1952; Carvalho & Fazuoli, 1993).

De qualidade superior, é uma espécie alotetraplóide, com  $2n=4x=44$  cromossomos e apresenta comportamento meiótico semelhante ao das espécies diplóides. A taxa de fecundação cruzada é de aproximadamente 10% (Carvalho & Fazuoli, 1993), sendo considerada, no melhoramento genético, como uma espécie autógama, com alogamia freqüente. É espécie suscetível a várias pragas, como bicho mineiro (*Leucoptera coffeella*), broca do café (*Hypothenemus hampei*), cigarras (*Quesada gigas*, *Carineta spp*, *Fidicina Pronoe* e *Dorisiana spp*), cochonilhas de raiz (*Dismicocus criptus*) e nematóides (*Meloidogyne sp*). É atacada por várias doenças, sendo a ferrugem alaranjada causada por *Hemileia*

*vastatrix* Berk.et.Br., e a antracnose dos frutos ou CBD (“Coffee Berry Disease”), causada por *Colletotrichum kahawae*, as duas mais importantes no mundo. As outras doenças são de menor importância e seus prejuízos são esporádicos. A ferrugem é um problema para o Brasil e demais regiões produtoras, enquanto que o CBD se restringe à África, causando prejuízos maiores que a ferrugem (Van Der Vossem, 1985).

A espécie *Coffea canephora* tem origem numa extensão geográfica mais ampla, numa faixa de região ocidental, central-tropical e subtropical do continente africano, com menores altitudes, temperaturas elevadas e precipitação entre 1.500 e 2.000 mm anuais. Sua origem e diversidade se estendem por vasta região da África, desde a Libéria até o Sudão Anglo-Egípcio, com grande concentração na região do Congo Belga. Atualmente, distribui-se amplamente no continente africano e em algumas regiões da América, caracterizadas por menores altitudes e temperaturas mais elevadas, com média anual entre 22 e 26°C (Mendes & Guimarães, 1999).

Esta espécie é diplóide ( $2n=2x=22$  cromossomos) e alógama, sendo a polinização realizada principalmente pelo vento. É formada por plantas altamente heterozigóticas, apresentando incompatibilidade gametofítica ocasionada por uma série alélica S, em um único loco. É uma espécie com elevado vigor e porte, rústica, com ampla variabilidade genética em relação ao ciclo, porte, arquitetura, tamanho e forma de frutos, folha e semente. Possui maior resistência ao ataque de pragas, doenças e nematóides, tolera temperaturas mais elevadas e suas sementes apresentam teores mais elevados de cafeína e sólidos solúveis em relação ao *C. arabica*. A cultivar Conilon é a mais importante dentro dessa espécie.

O cultivo de *Coffea canephora* intensificou-se no mundo a partir do surgimento do café solúvel, na década de 1950, e de seu emprego nas misturas ou ‘blends’ de café torrado e moído (Malta, 1986). No Brasil, começou a ser

comercialmente explorada a partir dos anos 1960, com o objetivo inicial do cultivo em áreas consideradas marginais para o *C. arabica* (Silva & Costa, 1995).

Espécies consideradas selvagens, como *Coffea congensis*, *Coffea sessiliflora*, *Coffea stenophylla*, *Coffea kapakata*, *Coffea eugenioides*, *Coffea liberica*, *Coffea dewevrei*, *Coffea racemosa* e outras, apesar de não serem cultivadas comercialmente, possuem ampla variabilidade genética para características importantes, como resistência às pragas e doenças, aos nematóides e à seca. Apresentam também maior variabilidade quanto ao ciclo, porte, teores de cafeína e sólidos solúveis, podendo ser utilizadas em programas de melhoramento (Fazuoli, 1986).

## **2.2 Melhoramento em Coffea**

Os melhoristas de café costumam dividir a história do seu melhoramento genético no Brasil em duas fases bastante distintas. A primeira vai desde a introdução da cultivar Arábica até o início da década de 1930 (cerca de 200 anos), quando se realizou um melhoramento meramente empírico, feito pelo próprio cafeicultor, que utilizava os mutantes e recombinantes que surgiam em suas lavouras ou materiais exóticos de outras regiões do mundo.

A segunda fase, a partir de 1933 até os dias atuais, é marcada pelo melhoramento científico, quando o Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) estabeleceu seu plano geral de melhoramento do cafeeiro (Mendes & Guimarães, 1999).

Os resultados dos trabalhos da Seção de Genética do IAC são os elevados níveis de produtividade das cultivares obtidas. Hoje, outras instituições somaram-se ao IAC, em vários estados brasileiros, em trabalho integrado e cooperativo. São exemplos, a Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), a Universidade Federal de Lavras (UFLA) e a Universidade

Federal de Viçosa (UFV), em Minas Gerais; o Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), no Paraná; o Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER) no Espírito Santo, dentre outras.

Considera-se que as cultivares de *Coffea arabica* obtidas no Brasil já atingiram um nível de produtividade satisfatório, podendo-se passar a enfatizar a resistência a doenças e pragas, porte e arquitetura da planta, dentre outras características (Guerreiro Filho, 1999). Contudo, esse nível de produtividade pode ser aumentado com o uso de outros métodos de melhoramento até agora pouco utilizados para o cafeeiro, como a seleção recorrente.

A estrutura genética do gênero *Coffea* favorece o melhoramento por introgressão. A hibridação natural ou artificial entre diferentes espécies tem sido de grande importância no melhoramento, pois características de interesse que faltam em uma cultivar são encontradas em outra e também em variedades selvagens. São muitos os exemplos de híbridos interespecíficos naturais e artificiais relatados na literatura, porém, poucos têm importância econômica (Van der Vossen, 1985). Maior atenção tem sido dada para a hibridação entre *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, principalmente para melhorar a qualidade deste ou para introduzir o vigor e a resistência a doenças desta espécie em *Coffea arabica* (Carvalho et al., 1984). Exemplos importantes de cruzamentos entre *Coffea arabica* x *Coffea canephora* de interesse no Brasil são os híbridos 'Arabusta' e 'Icatu'. Outro híbrido importante é o 'Catimor', resultante do cruzamento entre *C. arabica* e o híbrido de Timor. Este último, provavelmente, é um híbrido natural entre *C. arabica* e o *C. canephora*.

O controle de pragas e doenças pelo manejo, apesar de eficiente, contribui para aumentar o custo de produção da cultura e exige especial atenção em relação à época e condições de aplicação. O uso de cultivares resistentes no controle das pragas e doenças oferece maiores vantagens, podendo ser associado de maneira racional e eficaz a outros métodos.

### **2.3 Características do crescimento e do desenvolvimento do cafeeiro**

De acordo com Hartmann et al. (1997), o método usual de propagação do cafeeiro é por sementes. Contudo, é também possível sua propagação por métodos assexuais.

O cafeeiro é um arbusto de crescimento contínuo que apresenta um característico dimorfismo dos ramos: ramos ortotrópicos, que crescem verticalmente e ramos plagiotrópicos, que crescem lateralmente numa inclinação de 45 a 90° em relação ao eixo principal. Esses ramos originam-se de gemas diferencialmente determinadas, a partir da haste principal ortotrópica (Carvalho et al.; 1979). Na axila de cada folha, nos eixos verticais, existe uma série linear ordenada de 5 a 6 gemas (gemas seriadas) e, isolada acima dessa série, uma outra gema denominada "cabeça-de-série", que se forma na planta a partir do 8° ao 10° nó. Num fenômeno de determinismo morfológico, as gemas cabeça-de-série do ramo ortotrópico dão origem unicamente aos ramos laterais ou plagiotrópicos (ramos produtivos) e as seriadas aos ramos ortotrópicos que podem vir a se constituir em "ramos ladrões". Em condições de altas temperaturas ou sob incidência da luz solar, as gemas seriadas brotam espontaneamente, ficando a planta com aspecto entouceirado.

A planta de café arábica se forma normalmente de um só ramo ortotrópico central. Em seu ápice há uma zona de crescimento ativo que durante toda a vida da planta vai aumentando o ramo central, formando-se nós e entrenós (Leon, 1968). André (1973) menciona que o cafeeiro se caracteriza por apresentar grande especialização em seus ramos. Os ramos ortotrópicos são responsáveis pelo crescimento em altura enquanto os ramos laterais se formam de crescimento plagiotrópico com característica aparentemente irreversível. Este

dimorfismo caulinar se caracteriza por uma diferenciação somática de natureza permanente e suscetível de ser propagada vegetativamente.

## **2.4 Características das cultivares utilizadas neste estudo**

### ***Coffea arabica* L. cultivar Acaiá Cerrado**

A cultivar Acaiá foi selecionada dentro da cultivar Mundo Novo, a partir de plantas dessa cultivar que apresentaram sementes de maior tamanho, boa capacidade produtiva e boa rusticidade. Em Minas Gerais, em 1995, foi lançada a cultivar derivada da 'Acaiá', que recebeu a denominação de 'Acaiá Cerrado'. Esta cultivar vem exibindo excelente desenvolvimento vegetativo, com elevadas produções, mesmo em condição de solos menos férteis. A altura média é de 3,1 metros com diâmetro de copa de 1,88 metros. A seleção de prefixo MG-1474 tem sido recomendada para plantios comerciais.

Todas as seleções de 'Acaiá', e 'Acaiá' Cerrado têm despertado o interesse dos cafeicultores para o plantio adensado, em razão do seu reduzido diâmetro de copa e arquitetura adequada.

### ***Coffea arabica* L. cultivar Rubi**

Esta pode ser considerado como um melhoramento da cultivar Catuaí. Material selecionado e lançado em Minas Gerais, possui porte baixo, com altura por volta 2,0 metros e diâmetro médio de copa de 1,8 metro aos sete anos. Tem excelente produtividade e elevado vigor vegetativo. O número de ramificações secundárias é abundante. A maturação de frutos é intermediária em época e uniformidade. Os frutos são de coloração vermelha e as folhas, quando novas, são predominantemente de cor bronze-escuro. As seleções de prefixo MG-1190 e MG-1192 têm sido recomendadas para plantios comerciais.

Em razão do porte e arquitetura serem muito semelhantes aos da 'Catuaí', as recomendações de espaçamento para plantio, tanto no sistema

adensado quanto no livre crescimento (renque mecanizado), são as mesmas para a 'Rubi'.

***Coffea arabica* L. var. caturra**

Esta variedade originou-se na divisa dos estados de Minas Gerais e Espírito Santo, provavelmente como mutante da variedade Bourbon. É de porte reduzido, com frutos semelhantes aos da variedade Bourbon, folhas maiores e mais largas, bordos ondulados, de coloração verde desde os estádios iniciais de desenvolvimento. Apresenta elevada capacidade produtiva nas primeiras colheitas, reduzindo drasticamente com o passar dos anos. Acredita-se que esse fato seja conseqüência da baixa capacidade de absorção e acúmulo de nutrientes pelas raízes, já que esta variedade se adapta bem às condições de solos vulcânicos da Colômbia e da Costa Rica.

Trata-se do primeiro mutante encontrado com porte pequeno e elevada capacidade produtiva e, por esse motivo, muito contribuiu para o programa de melhoramento do cafeeiro desenvolvido pelo Instituto Agronômico de Campinas. A característica é controlada por apenas um gene, denominado caturra (Ct), com dominância do alelo que confere porte baixo sobre o porte alto (CtCt e Ctct porte baixo; ctct porte alto).

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRÉ, M. Observations sur L'orthotropisme et le plagiotropisme des rameaux chez *Coffea arabica* L. **Café Cacao Thé**, Paris, v. 27, n. 2, p. 125-128, avr./juí. 1973.

BRIDSON, D. Nomenclatural notes on *Psilanthus*, including *Coffea* sect. *Paracoffea* (Rubiaceae tribe coffeae). **Kew Bulletin**, London, v. 42, p. 453-460, 1987.

CARVALHO, A.; COSTA, W. M.; FAZUOLI, L. C. Comportamento do híbrido de Timor, de híbridos envolvendo esse cultivar e outras combinações com resistência a *Hemileia vastatrix*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS, 9., 1981, São Lourenço. **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC/GEARCA, 1981. p. 182-185.

CARVALHO, A.; FAZUOLI, L. C. Café. In: FURLANI, A. M. C. ; VIEGAS, G. P. D. **Melhoramento de plantas no Instituto Agrônômico**. Campinas, 1993. p. 29-76.

CARVALHO, A.; KRUG, C. A. Melhoramento do cafeeiro. IV - Café Mundo Novo. **Bragantia**, Campinas, v. 12, n. 4, p. 97 -129, abr/jun. 1952.

CARVALHO, A.; MÔNACO, L. C.; FAZUOLI, L. C. Melhoramento do cafeeiro. XL - Estudos de progênes e híbridos de café Catuaí. **Bragantia**, Campinas, v. 38, n. 22, p. 202-16, 1979.

CARVALHO, A.; MÔNACO, L. C.; FAZUOLI, L. C.; COSTA, W. M. da; MEDINA, H. P. Variabilidade na produção em progênes do cafeeiro Mundo Novo. **Bragantia**, Campinas, v. 43, n. 2, p. 509-17, 1984.

FAZUOLI, L. C. Genética e melhoramento do cafeeiro. In: Rena, A. B.; MALAVOLTA, E.; ROCHA, M.; YAMADA, T. **Simpósio sobre os fatores que afetam a produtividade do cafeeiro**. Poços de Caldas, MG, 1986. p. 86-113.

GUERREIRO-FILHO, O. Melhoramento do cafeeiro visando resistência às pragas. **III Simpósio de atualização em genética e melhoramento de plantas – Genética e melhoramento do cafeeiro**. Lavras, MG: UFLA, 1999. p. 36-49.

GUIMARÃES, R. J.; MENDES, A. N. G.; SOUZA, C. A. S. Classificação Botânica, Origem e Distribuição Geográfica do cafeeiro. In: GUIMARÃES, R. J.; MENDES, A. N. G.; SOUZA, C. A. S. (Ed.). **Cafeicultura**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2002. 317 p.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES, JR., F. R.; GENEVE, R. L. **Plant Propagation**: principles and practices. 6. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1977. 770 p.

LEON, J. **Fundamentos botânicos de los cultivos tropicales**. San José, Costa Rica: Instituto Interamericano de Ciências Agrícolas, 1968. p. 229-230. (Série Textos y Materiales de Enseñanza ; 18).

MALTA, M. M. Brasil - Novo produtor de café robusta. In: **Seminário Internacional do café robusta**. Vitória, ES: SEAG-ES, 1986. p. 19-28.

MELO, B. de; BARTHOLO, G. F.; MENDES, A. N. G. Café: variedades e cultivares. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 19, n. 193, p. 92-96, 1998.

MENDES, A. N. G.; GUIMARÃES, R. J. **Genética e melhoramento do cafeeiro**, Lavras: UFLA/FAEPE, 1999 . 99 p.

SILVA, A. E. S. da; COSTA, E. B. Importância econômica e social. In: COSTA, E. B. **Manual técnico para a cultura do café no Estado do Espírito Santo**. Vitória do Espírito Santo: SEAG-ES, 1995. p. 9-10.

SILVA, J. S.; BERBET, P. A. **Colheita, secagem e armazenamento de café**. Viçosa: Aprenda fácil, 1999. 146 p.

VAN DER VOSSEN, H. A. M. Coffee breeding and selection. In: CLIFORD, M. N.; WILSON, R. C. (Ed.). **Coffee botany biochemistry and production of beans and beverage**. London: Croom Helm, 1985. p. 84-96.

## **CAPÍTULO 2**

**Propagação do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) por meio  
de enraizamento de estacas caulinares**

## RESUMO

JESUS, Adriana Madeira Santos. **Propagação de cafeeiros (*Coffea arabica* L.) por meio de enraizamento de estacas caulinares.** In: Propagação vegetativa de cafeeiros (*Coffea arabica* L.). p.14-125, 2003. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia), Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

A clonagem de híbridos F<sub>1</sub> de *Coffea arabica*, pode representar uma diminuição significativa de tempo e recursos despendidos nos programas de melhoramento. Buscando-se uma metodologia que permita a clonagem eficiente, por meio de estaquia caulinar de plantas de *Coffea arabica* L. foram conduzidos dois experimentos em casa de vegetação, com sistema automático de nebulização, no Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG. No primeiro experimento utilizaram-se estacas de cafeeiros da cultivar Acaia e, no segundo, estacas da cultivar Rubi. Os trabalhos testaram a eficiência do aquecimento do leito de enraizamento, do fornecimento exógeno de sacarose (30 g.L<sup>-1</sup>) e de seis concentrações de AIB (0; 2.000; 4.000; 6.000; 8.000 e 10.000 mg.L<sup>-1</sup>) no enraizamento das estacas e na formação das mudas. Para o enraizamento utilizou-se como substrato uma mistura de areia lavada e vermiculita 1:1 e para a formação das mudas o substrato comercial Bioplant®. As avaliações foram feitas aos 45, 90 e 180 dias após a instalação. As estacas enraizadas foram repicadas para sacolas plásticas e transferidas para viveiro do tipo comercial com 50% de sombreamento. Os resultados mostraram que a sacarose não apresentou efeito positivo para nenhuma das variáveis analisadas. O aquecimento do leito de enraizamento não influenciou a porcentagem de formação de calo para 'Acaia' mas foi efetivo para a 'Rubi'. O aquecimento basal associado com o AIB não aumentou a porcentagem total de estacas enraizadas para a 'Rubi' e foi desfavorável para 'Acaia', mas aumentou o número de raízes, o peso da matéria seca das raízes e da parte aérea das mudas das duas cultivares. Foram realizados cortes histológicos em estacas caulinares que mostraram não existir barreiras anatômicas ao enraizamento adventício. A origem do primórdio radicular foi próxima aos tecidos vasculares. Cortes histológicos nas raízes formadas nas estacas e em raízes de mudas obtidas por semeadura confirmaram que elas apresentam as mesmas estruturas primárias. Um estudo preliminar do sistema radicular de mudas obtidas por meio de estacas e de mudas de semeadura mostraram que o sistema radicular das mudas de estacas possui maior comprimento total das raízes.

---

\* Comitê Orientador: Samuel Pereira de Carvalho (Orientador), Antônio Nazareno Guimarães Mendes – UFLA.

## ABSTRACT

JESUS, Adriana Madeira Santos. **Vegetative propagation of Coffee (*Coffea arabica* L.) through rooting of stem cuttings.** In: Vegetative propagation of Coffee (*Coffea arabica* L.). p.14-125, 2003. Thesis (Doctor of Science in Agronomy/Agriculture), Federal University of Lavras, Lavras, MG.\*

The cloning of F1 *Coffea arabica* hybrids may represent a significant decrease in time and resources spent on coffee plant improvement programs. With the objective to obtain a methodology that allows an efficient cloning of *Coffea arabica* L. plants through stem cutting, two experiments were carried out in a green house with automatic mist system in the Agriculture Department of the Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG. In the first experiment Acaiá cultivars cuttings were used and, in the second, Rubi cultivars. The efficiency of root bed heating, exogenous sucrose supply (30 g.L<sup>-1</sup>), and six concentrations of IBA (0; 2.000; 4.000; 6.000; 8.000 e 10.000 mg.L<sup>-1</sup>) on the rooting of cuttings and formation of seedlings was tested. A mixture of washed sand and vermiculite (1:1) and Bioplant® commercial substrate were used as substrate and for the formation of seedlings, respectively. The evaluations were carried out 45, 90 and 180 days after installation. All the cuttings that rooted at the time of evaluation were transferred to plastic bags and put in a commercial type green house with high coverage and 50% shade. The results showed that sucrose did not have a positive effect on any of the analyzed variables. The root bed heating did not influence the percentage of basal callus formation for the 'Acaiá' but was effective for the 'Rubi'. Bed heating associated with IBA did not increase the total percentage of 'Rubi' rooted cuttings and was unfavorable for the 'Acaiá'. Nevertheless it increased the number of roots, root and shoot dry matter weight in both cultivar seedlings. Histological cuts in stem cuttings demonstrated that there aren't anatomic barriers for the adventitious rooting. The origin of the root primordial was close to the vascular tissues. Histological cuts in the cutting roots and in roots of seedlings confirmed that they present the same primary structures. A preliminary study of the root systems of seedlings obtained through cutting and through seeds showed that the root systems of the latter have a high total root length.

---

\* Guidance Committee: Samuel Pereira de Carvalho (Major Professor), Antônio Nazareno Guimarães Mendes – UFLA.

### 3 INTRODUÇÃO

A propagação de *Coffea arabica* é realizada predominantemente por sementes, por se tratar de planta autógama, cujas progênies em geração avançada, não segregantes, são selecionadas tornando-se cultivares.

A maioria dos caracteres de interesse econômico no cafeeiro tem o fenótipo favorável condicionado pelo(s) alelo(s) dominante(s), como é o caso do porte baixo, resistência à ferrugem (*Hemileia vastatrix*), uniformidade de maturação de frutos, entre outros. Dessa forma, uma boa cultivar comercial de café deve ser portadora de alelos dominantes para esses genes, seja na condição homocigota ou heterocigota. Essa condição seria facilitada se fosse possível a utilização de híbridos F<sub>1</sub> comercialmente.

Outra vantagem com a utilização dos híbridos seria a exploração do possível vigor híbrido para a produtividade.

Uma alternativa para a propagação vegetativa é o enraizamento de estacas caulinares. Entretanto, a inexistência de uma metodologia bem definida para *Coffea arabica* tem sido a maior restrição ao emprego da propagação vegetativa “in vivo” como estratégia para o uso de híbridos de cafeeiros obtidos pelo melhoramento genético. Essa dificuldade no estabelecimento de um protocolo pode estar relacionada à variabilidade de respostas encontradas para as diferentes cultivares, com relação aos fatores que afetam o enraizamento.

A propagação por meio de estaquia é viável comercialmente para várias espécies, principalmente para as frutíferas. Outros exemplos são as biofábricas, no Instituto Biofábrica de Cacau, Ilheus, BA, com 15.000 estacas de cacauzeiro e na Aracruz celulose, ES, com 2.000 estacas de eucalipto que são colocadas diariamente para enraizar, proporcionando o plantio de grandes áreas com o mesmo clone.

Híbridos F<sub>1</sub> heteróticos, com expressão favorável para vários caracteres, como resistência à ferrugem, porte baixo, maturação uniforme dos frutos, menor bienalidade da produção, além de produtividade superior às linhas comerciais em até 20-30%, são disponíveis no Programa de Melhoramento Genético do Cafeeiro conduzido em Minas Gerais (EPAMIG/UFLA/UFV), necessitando apenas de metodologia que viabilize a aplicabilidade da propagação vegetativa em escala comercial.

## **4 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **4.1 Propagação vegetativa a partir de enraizamento adventício em estacas**

A propagação de plantas por meio de estaquia está sendo largamente utilizada em floricultura, horticultura, fruticultura e na silvicultura com o objetivo de melhorar e conservar clones, ecotipos ou variedades de importância econômica (Silva, 1985). A estaquia apresenta ainda outras vantagens, como a obtenção de um grande número de plantas em curto espaço de tempo a partir de poucas plantas matrizes e a redução do período improdutivo proporcionado pela juvenilidade.

O enraizamento de estacas é um fenômeno complexo que envolve diferentes eventos. De acordo com alguns autores (Dore, 1965; Girouard, 1967; Cameron & Thonson, 1969; Smith & Thorpe, 1975; White & Lowell, 1984), o processo de enraizamento pode ser dividido em pelo menos duas fases ou estágios: (1) formação do primórdio radicular, que ocorre dentro das estacas e (2) crescimento, que ocorre fora da estaca. Entretanto, não são conhecidos o número e os tipos de eventos que ocorrem em cada fase (Lowell & White, 1986). Para Hartmann et al. (1997), durante o processo de enraizamento de estaca ocorrem algumas fases que podem ser identificadas nos seguintes estágios: desdiferenciação, formação das raízes iniciais, desenvolvimento das raízes iniciais em primórdios de raízes reconhecíveis, crescimento e emergência dos primórdios radiculares.

Os fatores primordiais que afetam o enraizamento de estacas têm sido amplamente discutidos por autores como Carlson (1966); Couvillon & Erez (1980); Cheffins & Howard (1982a e 1982b). Segundo estes, a capacidade de enraizamento e a qualidade e quantidade de raízes nas estacas, variam segundo

espécies e cultivares, condições ambientais (fatores externos) e condições internas da própria planta (fatores internos). Fatores ou substâncias que são produzidas nas folhas e gemas e que são transportadas até a estaca também afetam a capacidade rizogênica destas (Janick, 1966). Estas causas ainda não estão claramente definidas, o que não permite uma generalização deste método de propagação.

A época do ano em que se obtêm as estacas, em alguns casos, exerce significativa influência, podendo ser um fator decisivo para o sucesso do enraizamento. Alguns autores, tais como Trione et al. (1963) e Kramer & Kozlowski (1960), consideram que, até certo ponto, a capacidade para formar raízes está mais relacionada com a condição que a planta está submetida do que com a época do ano de coleta das estacas.

Para Kramer & Kozlowski (1960), um bom desenvolvimento de raízes nas estacas é influenciado não só pelo clima ao qual está submetida a mesma, como também pelas condições internas da planta da qual foram obtidas. Já está comprovado que todos os aspectos do crescimento de plantas envolvem controle hormonal, havendo evidências crescentes que os fatores ambientais afetam o nível endógeno de hormônios. É também provável que os níveis endógenos dessas substâncias de crescimento sejam afetados pela nutrição mineral (Salama & Wareing, citados por Magalhães & Wilcox, 1987).

#### **4.2 Uso da indução radicular por aquecimento basal no enraizamento de estacas**

Com o uso de aquecimento basal no meio de propagação, mantendo uma temperatura constante apropriada para a espécie durante o período de enraizamento de suas estacas, têm-se conseguido bons resultados. Diversos autores têm desenvolvido trabalhos que demonstram os efeitos positivos do aquecimento basal no processo de enraizamento de estacas, tais como altas

porcentagens de enraizamento, maior número de raízes por estaca e rápido enraizamento.

Para estacas lenhosas de muitas espécies caducifólias, Carlson (1966) indica temperaturas do leito de enraizamento de 18,3°C a 21°C e do ar de 4,4°C a 7,2°C. Para espécies tropicais, Hartmann et al. (1997) indicam temperaturas de 25°C a 32°C e para temperadas de 18°C a 25°C.

Valle & Caldeira (1981), trabalhando com estacas de *Eucalyptus urophylla*, concluíram que o aquecimento basal é de importância fundamental no enraizamento, quanto a porcentagem e precocidade da formação de raízes. Os autores obtiveram, no tratamento com regulador de crescimento AIB associado ao aquecimento basal, até 80% de enraizamento. O mesmo benefício derivado do tratamento de estacas com substâncias sintéticas promotoras do enraizamento associado ao aquecimento basal durante o período de enraizamento foi observado por Howard & Garner (1965).

Fujii & Nakano (1974) fizeram um estudo para videira 'Delaware' utilizando aquecimento basal a temperaturas de 18°C, 21°C e 25°C. Esses autores verificaram que a temperatura de 21°C foi a mais indicada, por proporcionar a maior porcentagem de enraizamento e melhor peso fresco de raiz. Já a 25°C foi observado um sistema radicular excessivamente ramificado, com raízes muito finas. Jesus (1994), utilizando aquecimento basal a temperaturas de 25°C com AIB a 300 ppm, conseguiu um índice de enraizamento, em videira, de 80% em um período de 30 dias.

Estudando a regeneração de raízes adventícias em *Liriodendron tulipifera* L., Kelly & Moser (1983) constataram que a regeneração de maior número e peso de raízes e o crescimento de brotos ocorreram para a temperatura do solo de 21°C, na qual 89% das plantas iniciaram raízes.

Prasad & Rabbani (1988) obtiveram um enraizamento de estacas de goiabeira (*Psidium guajava* L.) submetendo-as ao aquecimento basal à

temperatura de  $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , em associação com reguladores de crescimento. Carpenter & Cornell (1992) determinaram a faixa ótima para o meio de enraizamento entre  $26^{\circ}\text{C}$  e  $30^{\circ}\text{C}$ , para cultivares de hibisco (*Hibiscus rosa sinensis*) de fácil e de difícil enraizamento, em associação com o uso de AIB.

Ashiru & Carlson (1968), utilizando temperaturas do leito de  $16^{\circ}\text{C}$  e  $21^{\circ}\text{C}$  para o enraizamento de estacas lenhosas dos porta-enxertos de macieira ‘Malling-Merton’ (MM106) e ‘East Malling’ (EMII) verificaram que, para ambos, a formação de calo e o enraizamento foram maiores a  $21^{\circ}\text{C}$ , associado ao uso de AIB a 1.500 ppm. Assim, houve um efeito estimulador na iniciação radicular, causado pela temperatura específica e a concentração de AIB. O mesmo resultado foi observado por Howard (1968).

Recentes estudos com espécies dos desertos de Sonoran e Chihuahua indicam que altas temperaturas podem ser benéficas para o enraizamento de estacas caulinares de plantas do deserto (Prat et al., 1998).

Lebrunet al. (1998) não obtiveram enraizamento de estacas de *Syzygium paniculatum* (Gaertn) quando o leito de enraizamento não foi aquecido. Entretanto, quando o substrato foi aquecido com temperatura de  $22 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , a porcentagem média de enraizamento excedeu 75% nos melhores substratos testados.

Prat et al. (1998), estudando a propagação por meio de estacas semilenhosas de alguns clones de jojoba (*Simmondsia chinensis* (link) Scheneider), relataram que o aquecimento basal foi efetivo para o clone de difícil enraizamento, sugerindo que esses clones anteriormente descartados podem ser utilizados comercialmente com a aplicação de aquecimento no leito de enraizamento.

#### **4.3 Uso de reguladores de crescimento no enraizamento de estacas**

A utilização de substâncias reguladoras de crescimento de natureza auxínica tem produzido diferenças significativas nas respostas ao enraizamento, tanto nas estacas herbáceas como nas semilenhosas e lenhosas. O uso de substâncias auxínicas promove a iniciação de raízes e acelera o processo de formação das mesmas, garantindo maior porcentagem de estacas enraizadas e melhor qualidade e uniformidade no enraizamento. O teor adequado de auxinas exógenas para estimular o enraizamento depende da espécie e da concentração de auxinas existentes no tecido (Hartmann et al., 1997).

Auxinas geralmente aumentam a capacidade de enraizamento de estacas da maioria das espécies de plantas, incluindo árvores tropicais (Leakey et al., 1990, 1994, citados por Tchoundjeu & Leakey, 2001).

Segundo Hartmann et al. (1997), as substâncias auxínicas mais utilizadas para promover o enraizamento são: ácido indolacético (AIA), ácido naftalenoacético (ANA) e ácido indolbutírico (AIB). Destes destaca-se o AIB como o principal regulador de crescimento utilizado para o enraizamento de estacas da maioria das espécies vegetais (Janick, 1966; Bose & Mandal, 1972; Weaver, 1976; Hartmann et al. 1997).

Utilizando estacas de seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell Arg.) com aplicação de alguns reguladores vegetais, Castro (1987) verificou que o AIB a  $2.500 \text{ mg.L}^{-1}$  foi o único que efetivamente induziu o enraizamento das mesmas. Sena-Gomes et al. (1998), utilizando estacas herbáceas e semilenhosas de cacaueteiro com concentrações de 400, 6.000 e  $10.000 \text{ mg.L}^{-1}$  de AIB, obtiveram porcentagens de enraizamento superiores a 70%.

Dutra et al. (1999) avaliaram o efeito do AIB no enraizamento de estacas de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Bastsch) cultivares Diamante, Br-2 e Capdebosq e verificaram que a porcentagem de estacas enraizadas aumentou até a concentração de  $2.318 \text{ mg.L}^{-1}$  com 36,65% de enraizamento. Em estacas semilenhosas de pessegueiro e nectarineira, Biase et al (2000), também

verificaram que a melhor concentração para o enraizamento de estacas, número de raízes e desenvolvimento do sistema radicular de pessegueiro foi de 2000 mg.L<sup>-1</sup>. Valor semelhante, 2.700 mg.L<sup>-1</sup>, foi encontrado por Rufato & Kersten (2000) para a porcentagem de enraizamento, número e comprimento de raízes em pessegueiro 'Esmeralda'. Dutra et al. (2002) obtiveram porcentagens de enraizamento de 91,34% para as cultivares Capdebosq e BR-2 e de 82,62% para a cultivar Diamante com o uso de AIB entre 2.000 mg.L<sup>-1</sup> e 3.000 mg.L<sup>-1</sup>, havendo aumento também do peso da matéria seca das raízes. Em estacas de ameixeira (*Prunus salicina* Sieb e Zucc), o uso de AIB 2.000 mg.L<sup>-1</sup> aumentou a porcentagem de enraizamento, o número e o comprimento das raízes (Tonietto et al., 2001). Essa mesma concentração foi altamente benéfica para aumentar a porcentagem de enraizamento de umezeiro (*Prunus mume* Sieb e Zucc) (Mayer et al., 2001).

A porcentagem de enraizamento, número e comprimento de raízes em estacas de *Acer oblongum* aumentou com aumento da concentração de AIB (Bhardway & Mishra, 2002). Dilliond & Klingamam (1992) obtiveram altas porcentagens de enraizamento (94%) de estacas de *Cercis canadensis* variedade Red bud, utilizando AIB na concentração de 20.000 mg.L<sup>-1</sup>.

Os resultados de enraizamento de estacas utilizando AIB são bastante variados, sendo dependentes do tipo de estaca, potencial genético, condição fisiológica e nutricional da planta matriz, idade da planta, da concentração e forma de aplicação do regulador de crescimento (Aminah et al., 1995; Antunes, 1995; Alegre et al., 1998; Ferreira & Cereda, 1999; Nachtigal et al., 1999; Scarpate Filho et al., 1999; Guan & De Klerk, 2000; Rufato et al., 2000; Tchoundjeu & Leakey, 2001; Oliveira, 2001; Tofanelli et al., 2002; Pijut & Moore, 2002; Bastos, 2002; Pio, 2002; Tofanelli et al., 2003).

A auxina pode ser o principal fator de enraizamento de estacas, mas tem sido considerado que algumas outras substâncias, além da auxina, podem estar

relacionadas ao processo. Kawase (1970) e Girouard (1969) são alguns dos autores que enfatizam a importância destas outras substâncias ou co-fatores. A auxina e os co-fatores de enraizamento devem ser considerados em estudos de iniciação de raízes, contudo, outros fatores também estão envolvidos. Lewis (1980) enfatiza um relacionamento metabólico no qual o boro, compostos fenólicos e peroxidases/AIA-oxidases interagem entre si e com as auxinas. O AIA-oxidase é um sistema enzimático que ocorre em várias plantas, catalizando a degradação do AIA, formando novos compostos e inativando a iniciação radicular que seria promovida pela auxina. Acredita-se que a peroxidase seja responsável por alguma atividade semelhante a da AIA-oxidase.

#### **4.4 Uso de sacarose no enraizamento de estacas**

Um dos primeiros trabalhos sobre a influência dos carboidratos no enraizamento de estacas foi desenvolvido por Kraus & Kraybill (1918), citados por Veierskov (1988). Os autores observaram que segmentos de caule de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.) que enraizaram apresentavam alta relação C/N, levando-os a formular a hipótese de que altas razões C/N, em estacas, estimulam a formação de raízes.

De acordo com Fachinello et al. (1995), maiores reservas de carboidratos correlacionam-se com maiores porcentagens de enraizamento e sobrevivência das estacas. Segundo Snyder (1954), citado por Ferri (1979), após tratamento das estacas com regulador de crescimento para indução do enraizamento ocorre uma translocação de carboidratos para a região de enraizamento aumentando o metabolismo e a taxa respiratória.

Segundo Haun & Cornell (1951) e Pearse (1943), existe uma relação entre o enraizamento e as reservas de hidratos de carbono e nitrogênio existentes na estaca. As estacas provenientes de plantas bem nutridas, porém com teores de nitrogênio em condições normais, enraízam-se com mais facilidade. Nessa

condição, o maior índice de enraizamento é atribuído ao maior acúmulo de carboidratos e à redução dos níveis de citocininas na estaca. Alguns trabalhos de pesquisa têm procurado relacionar a capacidade de enraizamento com a relação carbono/nitrogênio (C/N), indicando que a alta relação C/N é favorável à iniciação de raízes, ao passo que uma baixa relação é favorável ao desenvolvimento de ramos. O uso dessa relação nem sempre propicia respostas satisfatórias, pois o enraizamento depende, além desta relação, de outros fatores e também do material propagativo utilizado. Altos conteúdos de carboidratos nem sempre têm sido associados com elevado potencial de enraizamento. Em trabalho realizado com ramos de porta-enxerto de *Mallus* sp, estacas com maiores teores de açúcares não foram acompanhadas de aumento no enraizamento (Fachinello et al., 1988).

Decréscimo no conteúdo de carboidratos pode ser evidenciado poucos dias após o início de enraizamento (Haissig, 1982; Vierskov & Eriksen, 1982). Isso pode ser atribuído à menor capacidade das estacas de assimilar CO<sub>2</sub>, pelo fechamento dos estômatos (Orton, 1979), principalmente com o uso de nebulização. Uma alternativa para o fornecimento de carboidratos para as estacas é o fornecimento exógeno de carboidratos, na tentativa de suprir suas necessidades internas.

As concentrações geralmente utilizadas no processo de enraizamento estão entre 0,5% e 2%, dependendo do carboidrato (Nanda & Jain, 1972). Soluções com elevadas concentrações podem exercer uma forte influência sobre o balanço hídrico das estacas (Veierskov & Eriksen, 1982).

Loach & Whalley (1978) relatam que aumentaram a porcentagem de enraizamento em 33% com o fornecimento de sacarose, em solução a 2%, para estacas de várias espécies lenhosas. Alves et al. (1991) estudaram os efeitos da sacarose no enraizamento de estacas de aceroleira, imersas em solução a 15%, por 24 horas, constatando que a sacarose não promoveu nenhum ganho no

enraizamento, bem como na qualidade do sistema radicular e brotações formadas.

Estudando o uso da sacarose junto à solução de AIB, na promoção de enraizamento de estacas caulinares de porta-enxerto de videira, Chalfun et al. (1992) verificaram que o percentual de enraizamento das estacas tratadas apenas com água destilada foi de 84,83%, o que, entretanto, não diferiu dos tratamentos com AIB e/ou sacarose (90%). Os mesmos autores ainda constataram que, para o número médio de raízes por estacas enraizadas, houve um efeito sinérgico auxina/sacarose a partir das menores concentrações do regulador aplicado. Gontijo et al. (2000a), testando os efeitos do AIB e da sacarose no enraizamento de estacas de maracujazeiro-doce, observaram que a solução de sacarose a 2% na ausência do AIB, promoveu um ganho de 10% na porcentagem de enraizamento. Já para o maracujazeiro-azedo, Gontijo et al. (2002b) constataram a superioridade dos tratamentos sem sacarose na porcentagem de estacas enraizadas, verificando que a sacarose não promoveu efeito sinérgico com o AIB.

#### **4.5 Enraizamento de estacas de *Coffea canephora***

Plantas de *Coffea canephora* são auto-incompatíveis, sendo as sementes formadas a partir de fecundação cruzada. Quando se utilizam as sementes para a formação de mudas, a futura lavoura apresentará grande desuniformidade.

Para evitar esse problema, desenvolveram-se pesquisas para a formação de mudas por meio do enraizamento de estacas, obtendo-se clones da planta-mãe (Paulino et al., 1985).

Os ramos utilizados na formação das mudas por meio de estaca são os ramos ortotrópicos, ou seja, as hastes principais das plantas que nesse espécie são mais fáceis de serem produzidas, uma vez que as plantas são conduzidas multicaule.

Os ortotrópicos devem ser preparados e suas estacas colocadas para enraizar no mesmo dia. A preparação dos ramos consiste na eliminação parcial das folhas, deixando-se 1/3 do limbo foliar. Estacas com folhas cortadas transversalmente permitem maior sucesso no enraizamento.

Após a preparação, os ramos devem ser colocados em água em baldes ou tambores. Deve-se procurar uniformizar o tamanho das estacas em torno de 5-6 cm. No ramo ladrão em crescimento, os melhores nós a partir da ponta são os cinco primeiros que, por serem menos lenhosos, enraízam mais facilmente. A estaca pode ser de um nó inteiro (duas gemas) ou de meio nó (uma gema apenas, após corte da estaca no sentido longitudinal).

No processo de enraizamento das estacas, os substratos contendo areia ou vermiculita são mais indicados que aqueles com material orgânico.

Quanto à época de coleta dos ramos, Evans (1958) obteve maior porcentagem de enraizamento em estacas de ramos coletados em junho, que corresponde à época de chuvas no Quênia. Da mesma forma, Purushothan et al. (1984) também verificaram ser a época das chuvas a melhor para a coleta dos ramos.

Paulino et al. (1985) apresentam as seguintes vantagens para a propagação vegetativa de plantas de *Coffea canephora*: a) elevação da peneira média, obtendo-se café mais graúdo, de grande importância na comercialização internacional; b) uniformização da maturação dos frutos, melhorando a qualidade final do produto e reduzindo a incidência de broca; c) aumento da produtividade, por meio da seleção de matrizes altamente produtivas; d) eliminação, nas futuras lavouras, de plantas suscetíveis à mancha manteigosa; e) redução na porcentagem de infecção pela ferrugem, pela seleção de plantas resistentes; f) redução na incidência de ramos ladrões em relação às mudas oriundas de sementes, reduzindo os gastos com desbrotas e proporcionando uma melhor formação da "saia" do cafeeiro; g) emissão mais rápida dos ramos

produtivos (plagiotrópicos), ou seja, a partir do primeiro ou segundo pares de folhas, enquanto que na muda formada por meio de semente isso só ocorre após o oitavo par; h) a formação de mudas clonadas pode ser realizada durante o ano todo, enquanto que a formação de mudas por meio de semente só pode ser realizada até o quarto mês após a colheita, devido à rápida perda de poder germinativo das sementes.

Em *Coffea canephora*, a propagação vegetativa de clones superiores por estaquia é uma realidade, especialmente no estado do Espírito Santo e em outras regiões aptas a essa espécie. Há que se observar, porém, a questão da auto-incompatibilidade. Assim, são selecionadas algumas plantas superiores compatíveis entre si, para clonagem por meio de estacas. Mudas provenientes de plantas compatíveis são plantadas em conjunto, formando variedades clonais constituídas geralmente por seis clones.

#### **4.6 Enraizamento de estacas de *Coffea arabica***

A propagação de *Coffea arabica* por via assexual não tem sido praticada em grande escala, restringindo-se à propagação por sementes (Sylvain, 1979), embora as pesquisas sobre esse método há muito sejam realizadas (Evans, 1958; Mendes, 1950). Mais recentemente, os trabalhos realizados com híbridos F<sub>1</sub>, obtidos a partir dos cruzamentos Icatu x Catimor, Icatu x Catuaí e Catuaí x Híbrido de Timor, despertaram novamente o interesse pela propagação vegetativa desse material em escala comercial, visando manter a heterose para produtividade e a expressão favorável para caracteres de interesse, como a resistência à ferrugem, o porte baixo e a uniformidade de maturação dos frutos. A inexistência de informações sobre macho-esterilidade em *Coffea arabica* dificulta a obtenção desses híbridos F<sub>1</sub> por semente. Sondahl et al. (1981) afirmam ser possível, em *Coffea arabica*, multiplicar rapidamente genótipos com certas combinações de alelos favoráveis para resistência à ferrugem da

folha, por via assexual, para fazer face à rápida evolução de raças fisiológicas do fungo.

Uma alternativa bastante viável para a propagação de híbridos de cafeeiro em escala comercial e mesmo a manutenção de materiais de interesse ainda em heterozigose, nos programas de melhoramento, é a propagação vegetativa via enraizamento de estacas, tal como se faz em *Coffea canephora*. Contudo, várias tentativas foram feitas, com resultados variáveis entre os trabalhos, em razão do menor percentual de enraizamento.

Romeiro (1973) obteve enraizamento superior a 70% de estacas de cafeeiro tratadas com 200 ppm de ANA. Foram utilizadas estacas de um nó com duas folhas cortadas ao meio e imersas em solução com o regulador de crescimento por 24 horas, à temperatura ambiente.

Martins (1985), estudando o efeito de quatro reguladores de crescimento (AIA, AIB, ANA e 2,4-D) em cinco concentrações (0, 300, 1.000, 3.000 e 10.000 ppm) na cultivar Bourbon Amarelo, concluiu que AIA e o ANA não mostraram efeito sobre o enraizamento. O AIB influenciou positivamente o número de raízes e o 2,4-D influenciou o enraizamento, contudo, mostrou-se fitotóxico.

Rezende (1996) avaliou os efeitos de diferentes concentrações do antioxidante PVP40 na propagação vegetativa de estacas da cultivar Mundo Novo (CLP-379/19) e concluiu que a melhor concentração foi de 330 mg.L<sup>-1</sup> com imersão durante 6 horas, apresentando um percentual de enraizamento de 68%.

Bergo (1997) obteve 92,9% de enraizamento em estacas 'Acaiá' aos 180 dias, com imersão em 400 mg.L<sup>-1</sup> de AIB por três horas e de 74% na ausência do regulador. Este autor ainda observou que a porcentagem de estacas vivas e o peso seco das raízes aumentaram com o aumento da concentração de AIB.

Ono et al. (1992) relataram que o AIB foi efetivo para o enraizamento (56,25%) e na ausência deste não houve enraizamento de estacas da cultivar Mundo Novo e que utilização de auxinas aumentou o número médio de raízes, o qual ficou em torno de 5,0 raízes por estaca.

Pereira (2000), utilizando a cultivar Mundo Novo e diferentes concentrações de ANA associadas a tempos de imersão, concluiu que o uso do ANA foi efetivo no aumento do número de raízes e do peso da matéria seca das mesmas, tendo a melhor resposta sido obtida na concentração de 665 mg.L<sup>-1</sup>, independentemente do tempo de imersão na solução. Este autor obteve, em outro estudo com a ‘Acaiá’ em diferentes substratos, areia, húmus de minhoca, cisco de café e o substrato padrão, porcentagens de enraizamento variando de 34% a 89%, aos 150 dias pós-instalação.

## **4.7 Aspectos anatômicos do enraizamento adventício**

### **4.7.1 Origem do primórdio radicular**

O conhecimento da estrutura interna do caule facilita a compreensão do processo de formação dos primórdios de raízes adventícias em estacas caulinares, uma vez que os mesmos possuem origens histológicas diversas. O corpo primário do caule apresenta três sistemas de tecidos: o dérmico, o fundamental e o vascular. O sistema dérmico é representado pela epiderme; o fundamental encontra-se nas regiões denominadas córtex e medula, sendo que esta última, em certas plantas, pode estar ausente. No sistema vascular, encontram-se o xilema e o floema, em feixes vasculares.

Segundo Fahn (1995), raízes adventícias podem desenvolver-se a partir de raízes já desenvolvidas, do hipocótilo de plantas jovens, do corpo primário e secundário de caules, e de folhas. Nas raízes e caules da maioria das plantas as raízes adventícias desenvolvem-se endógenamente, mas existem exemplos em

que esse desenvolvimento é exógeno. Primórdios de raízes adventícias podem ser formados pelos seguintes tecidos: a epiderme, junto com o tecido cortical de gemas e hipocótilo (*Cardamine pratensis*, *Rorippa austriaca*); periciclo do caule (*Coleus sp*, *Zea mays*); parênquima do raio entre o periciclo e o câmbio (*Tropaeolum majus*, *Lonicera japonica*, *Tamarix sp*); parênquima do raio do floema (*Hedera helix*); entre feixes vasculares do floema e câmbios secundários não diferenciados (*Rosa*); no câmbio interfascicular e periciclo (*Portulaca oleracea*); no câmbio interfascicular, periciclo e floema (*Begonia*); em interrupções parenquimatosas no xilema secundário que são formadas devido à presença de lacunas nas folhas (*Ribes nigrum*) ou gemas (*Cotoneaster dammeri*); tecidos da margem de folhas e pecíolos (*Begonia*, *Kalanchoë*).

Em algumas espécies de *Salix*, as raízes desenvolvem-se do primórdio que aparece no caule e são formadas a partir do tecido parenquimatoso secundário. Várias camadas de células externas ao câmbio assumem a formação de um primórdio e as células do lado interno são adicionadas pelo câmbio. O primórdio fica com um formato de cúpula como resultado do intenso crescimento do xilema secundário imediatamente interno. Esse primórdio permanece dormente dentro da casca interna, assim como ao longo do ramo que não é removido da planta. A diferenciação desse primórdio é extremamente baixa, ficando não discernível com o amadurecimento dos tecidos e o aumento da idade da planta. A maioria desses primórdios desenvolve-se rapidamente em raiz quando os ramos são transformados em estacas, tendo sido observados em raízes de plantas lenhosas como *Zygophyllum dumosum*.

A organização da estrutura de raízes adventícias e sua seqüência de desenvolvimento são semelhantes, em todos os aspectos, às das raízes verdadeiras. O pequeno grupo de células originais, após estas tornarem-se meristemáticas, continua a se dividir formando grupos de muitas células, as quais se desenvolvem em primórdios de raízes. A divisão celular continua e

aparece uma estrutura de ponta de raiz, que desenvolve um sistema vascular e o primórdio de raiz liga-se ao feixe vascular da estaca. A ponta da raiz projeta-se para o exterior através do córtex e epiderme (Dedecca, 1957; Esau, 1993; Hartmann et al., 1997).

Existem plantas com diferentes habilidades para emitir raízes em estacas. Segundo Ono & Rodrigues (1996), plantas com primórdios de raízes adventícias dormentes ou pré-formadas enraízam facilmente, como ocorre em *Salix*, assim como muitas plantas com raios vasculares largos (abertos) sem tais primórdios (*Vitis vinifera*, *Tamarix spp*). Estacas de *Ceratonia*, *Pyrus* e *Carya*, que não têm primórdio dormentes e nas quais os raios são estreitos, enraízam com dificuldade. Em espécies de Gimnospermas, *Agathis australis*, a estaca pode levar meses para desenvolver raízes. Os mesmos autores afirmam também que as raízes podem originar-se das células epidérmicas, do floema secundário, do periciclo e do sistema vascular e que o sucesso do desenvolvimento de raízes adventícias em estacas depende da participação do câmbio na formação do calo e, subseqüentemente, o câmbio regenerando dentro do calo na forma de um ponto externo saliente. Em palmeira (*Rhapis excelsa*), as raízes adventícias originam-se endogenamente, rompendo a superfície do caule. Os tecidos vasculares da raiz são presos diretamente aos feixes vasculares do caule, penetrando profundamente dentro deste.

Em plantas lenhosas, Xavier (2002) afirma que os primórdios radiculares poderão surgir de células parenquimáticas vivas (quando jovens), raio vascular/medular, câmbio, floema, calos internos e externos, de canais resiníferos, córtex ou lenticélulas.

Em algumas plantas, raízes adventícias formam-se precocemente no caule e estão, portanto, presentes na estaca quando esta é retirada para ser propagada. Porém, essas raízes pré-formadas não são essenciais a um enraizamento rápido.

Segundo Alvarenga & Carvalho (1983), a maioria das raízes adventícias de estacas de caule origina-se de células que são capazes de tornarem-se meristemáticas. Nas estacas de plantas herbáceas, essas células encontram-se fora e entre os feixes vasculares. Em estacas de plantas lenhosas, as raízes adventícias das estacas originam-se do tecido do floema secundário jovem ou de outros tecidos, como o câmbio, raios vasculares e medula. Os autores citam também que, após as estacas serem colocadas em condições favoráveis ao enraizamento, desenvolve-se na extremidade basal o calo, que é formado por uma massa irregular de células parenquimatosas em vários estágios de lignificação. O calo tem início nas células da região vascular do câmbio e floema, podendo também várias células do córtex e medula contribuir para a sua formação.

Estudos realizados por Shimoya & Gomide (1969), em estacas de figueira levaram os autores a afirmar que a formação do primórdio radicular depende da formação do calo na região do periciclo, o qual cresce em forma de “bolsa” até atingir, de um lado, o câmbio adjacente a um raio lenhoso, e de outro o córtex. Resultados obtidos por Torres (1976), que verificou os primórdios radiculares de maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis*) podem originar-se em dois locais distintos, no calo formado na base da estaca e endogenamente, no prolongamento dos raios lenhosos, corroboram esta afirmativa. Para que esta formação ocorra, o autor cita que a estaca deve apresentar o primeiro anel lenhoso formado.

A iniciação do primórdio radicular em estacas varia com a espécie estudada e o grau de maturidade dos tecidos. Resultados obtidos por Bondok, Salama & Moustafa (1984), com estacas de *Diospyros virginiana*, revelaram a iniciação do primórdio radicular nas células do periciclo. De modo análogo, os trabalhos realizados por Pacheco et al. (1988), revelaram que as raízes adventícias de videira tiveram origem endógena e sua formação ocorreu nas

proximidades da região cambial e não no tecido caloso, semelhantemente aos resultados obtidos por Lopes (1995), que observou a origem das raízes adventícias sempre nas proximidades do câmbio vascular. Pratt (1974) relata que as raízes adventícias em videira ‘Euvites’ originam-se no câmbio interfascicular ou nas suas proximidades. Segundo o autor, não houve formação de primórdios radiculares diretamente do calo. Porém, a possibilidade de enraizamento de algumas espécies lenhosas como *Populus alba* depende da própria estrutura anatômica da estaca que, segundo Scaramuzzi (1960), deverá conter células iniciais de raízes previamente formadas sobre os ramos, antes destes serem destacados da planta mãe.

#### **4.7.2 Barreiras à emergência do primórdio radicular**

Estudos anatômicos realizados por Davis & Haissig (1994) evidenciaram que células da endoderme e do periciclo estão envolvidas na iniciação de raízes e que a presença de fibras do floema parece não ser uma barreira à formação de raízes. Entretanto, a dediferenciação de células maduras, que permite a divisão celular e a iniciação do primórdio, constitui um dos pontos cruciais no processo de iniciação de raiz.

O desenvolvimento de um contínuo anel de esclerênquima entre o floema e o córtex, externamente ao ponto de origem das raízes adventícias, possivelmente constitui uma barreira anatômica ao enraizamento, conforme citam Hartmann et al. (1997), uma vez que a formação deste tecido está sempre associada com a maturidade da planta. Em estudos com estacas obtidas de ramos maduros de *Hedera helix* de difícil enraizamento, de oliveira e de *Ficus pumila* esses autores verificaram que a presença do anel esclerenquimático estava sempre associada com as estacas recalcitrantes, enquanto aquelas de fácil enraizamento foram caracterizadas pela descontinuidade ou por poucas camadas de células no anel de esclerênquima. Embora a bainha de tecido lignificado no

caule, em muitos casos, possa atuar como uma barreira mecânica à emergência das raízes, os mesmos autores citam que existem muitas exceções, em que esta não constitui a causa primária da dificuldade de enraizamento. Tratamentos com auxinas promovem considerável expansão e proliferação do córtex, floema e câmbio, resultando na quebra da continuidade do anel esclerenquimático, em várias cultivares de espécies frutíferas de difícil enraizamento, promovendo a formação de raízes iniciais. Semelhantemente, cultivares de cravo (*Dianthus caryophyllus* L.), de fácil enraizamento, possuem um anel de esclerênquima no caule. Contudo, o primórdio radicular desenvolve e emerge da estaca pelo crescimento descendente e para fora através da base da estaca.

Para Beakbane (1961), a capacidade das estacas caulinares de frutíferas para formar raízes parece estar relacionada com a estrutura anatômica do floema primário, nos quais os lenhos das variedades de difícil enraizamento freqüentemente apresentam alto grau de esclerificação e as células do tecido esclerenquimático ocorrem em faixas ao redor dos tecidos vasculares, fornecendo proteção e sustentação. Podem também ocorrer nos tecidos parenquimáticos, como no córtex de caule e atuar como barreira anatômica na propagação de plantas lenhosas por estaquia. O autor observou, em *Pyrus* sp., uma camada quase contínua de fibras com paredes celulares grossas envolvendo o floema secundário, visto em corte transversal como uma camada de tecidos lignificados. Observou-se uma correlação direta entre o crescimento da camada esclerenquimática e a diminuição da capacidade de enraizamento da estaca. Em estudos realizados com macieira (*Malus* sp), o autor fez comparações entre lenhos, exibindo características juvenil e adulta, obtidos da mesma planta, na qual verificou a quase ausência de células esclerênquimáticas no floema primário no lenho juvenil, e uma camada contínua dessas células no lenho maduro, levando à não formação de raízes adventícias nas estacas de material maduro.

Em outras espécies de difícil enraizamento tem sido observada a mesma correlação positiva entre o grau de esclerificação do floema primário e a não formação de raízes adventícias nas estacas. Neste ponto, Ciampi & Gellini (1963), Beakbane (1961) e Sachs et al. (1964) concordam que a extensa camada de esclerênquima do tecido floemático constitui barreira mecânica à emergência do primórdio radicular. Da mesma forma, a maior ou menor continuidade da camada de esclerênquima parece afetar o tempo de formação do primórdio radicular em *Hibiscus* (Kachecheba, 1975). O autor verificou que, entre as espécies de *Hibiscus*, estudadas houve diferença na capacidade de enraizamento, e que o primórdio radicular se originava na região não diferenciada da zona do câmbio, crescendo através das fendas existentes entre as fibras do floema.

Segundo Gellini (1964), citado por Ono & Rodrigues (1996), estacas de algumas variedades de *Olea europaea* difíceis de enraizar apresentaram intensa lignificação da parede celular e formação de esclereídeos, não sendo, portanto, a continuidade ou descontinuidade das células esclerenquimáticas o fator responsável pela ausência de enraizamento. Porém, nesta mesma espécie, Sachs et al. (1964) observaram considerável expansão e proliferação celular no córtex, floema e câmbio, em estacas tratadas com ácido indolbutírico (AIB). Este procedimento levou à interrupção do esclerênquima, formando grandes falhas na camada esclerenquimática, após cinco semanas de tratamento, iniciando a formação do primórdio radicular. Observações de Avidan & Lavee (1978), em estacas da mesma espécie, revelaram que durante o período de enraizamento ocorreu uma rápida degradação da camada de esclerênquima presente no caule, logo após o plantio e o enraizamento foi favorecido.

#### **4.8 Medição de raízes por meio de imagens digitalizadas**

Os estudos dos sistemas radiculares, estrutura e funções, são de grande importância para o entendimento do funcionamento da planta no campo. No entanto, medir comprimento, volume, área e diâmetro das raízes requer muito trabalho e tempo. Além disso as metodologias utilizadas estão sujeitas a várias fontes de erro que podem limitar a precisão dos resultados obtidos (Caldwell & Virginia, 1989; Zoon & Van Tienderen, 1990; Himmelbauer et al., 2002).

A massa seca total das raízes é frequentemente usada, por ser mais fácil de medir, para comparar sistemas radiculares (Carley & Watson, 1966; Murphy & Smucker, 1995). No entanto, ela sozinha parece não ser adequada para estudos das raízes, uma vez que não fornece informações sobre a relação solo-planta que está envolvida na maior parte das funções das raízes. O peso da matéria seca espelha apenas a estrutura radicular, não dando boa ou mesmo qualquer idéia sobre as raízes absorventes, aquelas fisiologicamente mais ativas. Algumas centenas de gramas podem representar apenas uma raiz grossa, próxima à pivotante, porém, poucos gramas de radículas podem conter muitos metros quadrados de superfície absorventes de água e minerais (Rena & Guimarães, 2000).

O comprimento total e a área das raízes têm mostrado melhor o comportamento das mesmas em relação à absorção de nutrientes. Assim essas características são importantes indicadores da capacidade de absorção, dos sistemas radiculares (Himmelbauer et al., 2002). Box & Ransseur (1993) encontraram maiores diferenças significativas entre tratamentos quando raízes de trigo foram comparadas pelo comprimento do que pela massa total. Finer et al. (1997) observaram que, em coníferas, a maioria das raízes era fina (<1,0 mm), com mais de 90% do comprimento total das raízes, enquanto a massa seca foi igualmente distribuída entre os diferentes diâmetros.

Sistemas de análise de imagens digitalizadas oferecem maior facilidade nos estudos do sistema radicular, com medições mais rápidas e precisas para

avaliação das características de raízes, como comprimento, área superficial diâmetro e classificação em tamanhos (Arsenault et al., 1995; Tagliavini et al., 1993; Costa et al., 2000; Himmelbauer et al., 2002).

Berntson (1992) relatou que houve correlação linear de Pearson entre os dados obtidos com medição manual, pelo método do mapeamento em acetato, do comprimento de raízes de *Senecio vulgaris* e os dados calculados por um programa de computador por meio de imagem digitalizada desenvolvido pelo autor na Universidade de Harvard.

Raízes finas com diâmetros menores que 0,3 mm aparecem em cerca de quase 80% do total do comprimento de muitas espécies e são de difícil mensuração. O sistema de análise de imagem possibilita medir o comprimento até das mais finas raízes. Costa et al. (2000) mediram as raízes de seis espécies herbáceas (cevada, milho, aveia, soja, trigo e morango) coletadas com três ou cinco semanas após a emergência e relataram que a medição dos sistemas radiculares, com base nas imagens digitalizadas, foi efetiva, especialmente para espécies com grande porção do sistema radicular constituído de raízes finas.

Resultados obtidos por diversas análises de imagens digitalizadas em “scanner” mostram dependência sobre a medição técnica dos métodos de tratamento das amostras durante o processo de digitalização. São várias as técnicas freqüentemente utilizadas como por exemplo, diferentes produtos para lavagem, clareamento e coloração das raízes (Harris & Campbell, 1980; Zoon & Van Tienderen, 1990; Pan & Bolton, 1991; Smit et al., 1994; Murphy & Smucker, 1995; Kaspar & Ewing 1997).

Mesmo com avanços no estudo de raízes tornados possíveis por meio da análise de imagem assistida por computador, a medição do comprimento do sistema radicular ainda consome muito tempo, principalmente devido ao grande comprimento de raízes que podem ser encontradas em um único sistema radicular ou em um pequeno volume de solo (Costa et al. 2000).

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1. Enraizamento das estacas e formação das mudas

Os experimentos constaram de duas fases distintas. Na primeira fase realizou-se enraizamento das estacas em casa de vegetação; na segunda foram avaliadas, no viveiro, a sobrevivência e a conseqüente formação de mudas das estacas enraizadas na primeira fase.

Testou-se o efeito do aquecimento basal, do fornecimento de sacarose e de doses de ácido indol-3-butírico (AIB) no enraizamento de estacas e formação de mudas de *Coffea arabica* L. cultivares Acaiá Cerrado MG 1474 e Rubi MG 1192. Cada uma das cultivares constituiu um experimento.

#### 5.1.1 Enraizamento das estacas em casa de vegetação

Esta fase foi realizada em casa de vegetação com controle de umidade e temperatura, equipada com sistema automático de irrigação por microaspersão, no Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG.

Foram utilizados fragmentos de ramos ortotrópicos obtidos por meio de recopa de plantas matrizes com cinco anos de idade, pertencentes ao campo experimental da UFLA, e crescidos entre os meses de novembro de 2001 e fevereiro de 2002.

Após a coleta dos ramos, em março de 2002, estes foram mantidos sob nebulização para evitar a desidratação. As estacas foram obtidas da parte mediana do ramo ortotrópico, deixando-as com um nó, com um par de folhas cortadas pela metade e com 4-6 cm de comprimento. Foi realizado um corte em bisel na base e no ápice das estacas, conforme metodologia usada em *Coffea*

*canephora* (Paulino et al., 1985). Imediatamente após o preparo, as estacas foram submetidas aos tratamentos.

Os tratamentos foram arranjados num fatorial 2 x 2 x 6, em delineamento inteiramente casualizado, com 3 repetições, sendo cada parcela constituída por 10 estacas.

1º fator: aquecimento basal (2 níveis: com e sem );

2º fator: sacarose (2 níveis: com e sem );

3º fator: AIB veiculado em talco inerte (6 concentrações: 0; 2.000; 4.000; 6.000; 8.000 e 10.000 mg.L<sup>-1</sup>)

As combinações entre os dois primeiros fatores, para facilitar o entendimento, foram codificadas da seguinte forma:

- sem aquecimento basal e sem fornecimento exógeno de sacarose: aq=0 e sac=0
- sem aquecimento basal e com fornecimento exógeno de sacarose: aq=0 e sac=1
- com aquecimento basal e sem fornecimento exógeno de sacarose: aq=1 e sac=0
- com aquecimento basal e com fornecimento exógeno de sacarose: aq=1 e sac=1

Para os tratamentos submetidos à indução por aquecimento basal o substrato, colocado em canteiro suspenso, foi mantido aquecido à temperatura de 25°C, por sistema de aquecimento que utiliza passagem de água quente por tubos colocados sob o substrato. As bases das estacas que tiveram fornecimento exógeno de sacarose foram imersas em solução na concentração de 30 g L<sup>-1</sup> por 3 horas. Utilizou-se o regulador de crescimento para enraizamento, ácido indol-3-butírico (AIB), veiculado em talco inerte. A aplicação foi feita introduzindo-se a base das estacas em torno de 1,5 cm na formulação de pó.

Foi utilizado como substrato em leito de enraizamento uma mistura de areia lavada e vermiculita na proporção de 1:1, previamente tratada com brometo de metila.

Foram realizadas três adubações foliares com macro e micronutrientes com cloreto de potássio (0,3%); sulfato de zinco (0,3%) e ácido bórico (0,3%).

Foram feitas aplicações semanais com Benlate® (1gramas/litro) e Agrimicina® (2 gramas/litro) até os 60 dias após a instalação do experimento. Depois desta data, as aplicações passaram a ser de Cerconil® (20 gramas/litro) e com oxicloreto de cobre (2 gramas/litro).

As avaliações, foram feitas em três datas diferentes. A primeira aos 45 dias (número de estacas enraizadas e número de estacas calejadas); a segunda aos 90 dias (número de estacas enraizadas e número de raízes por estaca) e a terceira aos 180 dias (número de estacas enraizadas) após a instalação. A soma das estacas enraizadas na primeira e na segunda avaliações resultou na variável número de estacas enraizadas total. A estacas enraizadas aos 90 dias foram repicadas para saquinhos contendo substrato comercial, para a formação das mudas.

As variáveis, após o enraizamento das estacas em casa de vegetação, foram analisadas usando modificação da análise de modelos lineares clássicos desenvolvidos por Nelder & Wedderburn (1972) que, na realidade, mostraram que uma série de técnicas comumente estudadas separadamente podem ser reunidas sob o nome de Modelos Lineares Generalizados (MLG) (Demétrio, 1999). A aplicação de modelos generalizados foi feita em virtude dos dados não apresentarem distribuição normal e também pelo interesse em avaliar a proporção das variáveis considerando a estrutura fatorial do experimento. Por se caracterizar dados de proporção é conveniente assumir que os mesmos provem de uma distribuição binomial. A análise da variável é dada pela transformação logito (Demétrio, 1999), de acordo com a seguinte expressão:

$$\text{logito}(\mu_i) = \ln\left(\frac{\mu_i}{1-\mu_i}\right) = \mu + \delta_i + \alpha_j + \beta_k + \delta\alpha_{ij} + \delta\beta_{ik} + \alpha\beta_{jk} + \delta\alpha\beta_{ijk}$$

Em que:

$\mu$  = média constante;

$\delta$  = efeito do aquecimento basal;

$\alpha$  = efeito da sacarose;

$\beta$  = efeito do AIB.

A qualidade do modelo ajustado é dado inicialmente pela razão: valor deviance/grau de liberdade. Com base neste valor estima-se a probabilidade por meio de uma distribuição de qui-quadrado, de modo que, para altos valores, o modelo ajustado é adequado aos dados observados.

### **5.1.2 Formação de mudas, por meio das estacas enraizadas, em viveiro**

As estacas enraizadas nas ocasiões de avaliação foram repicadas para saquinho convencional de polietileno para mudas de meio ano, com 10 cm x 20 cm, contendo o substrato comercial Bioplant<sup>®</sup> e transferidas para viveiro com 50% de sombreamento e irrigação manual. Foi mantido o mesmo delineamento experimental da primeira fase.

Após o pegamento das mudas, foi realizada adubação com 1 grama por saquinho com o fertilizante de liberação controlada Osmocote 15-10-10. Foram realizadas três adubações foliares com macro e micronutrientes com cloreto de potássio (0,3%); sulfato de zinco (0,3%) e ácido bórico (0,3%).

As avaliações foram realizadas quando as mudas, formadas a partir das estacas enraizadas aos 90 dias, atingiram o estágio ideal para plantio no campo (3 a 6 pares de folhas na maior brotação). Foram avaliadas as seguintes características: a) número de mudas formadas, b) número médio de raízes por muda, c) peso da matéria seca das raízes, d) peso da matéria seca da parte aérea e e) relação peso da matéria seca das raízes/peso da matéria seca da parte aérea.

As análises de variância e testes de médias foram os usuais para o arranjo fatorial no delineamento inteiramente casualizado, com transformação de dados para  $\log(x+1)$  para as variáveis da cultivar Rubi que não mostraram normalidade, aditividade do modelo ou homogeneidade de variâncias entre tratamentos.

## **5.2 Análises anatômicas**

### **5.2.1 Procedimentos gerais**

As análises anatômicas foram feitas no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

O material coletado foi lavado em água corrente e depois fixado por 72 horas em F.A.A<sub>70</sub> (5ml de formaldeído, 5ml ácido acético e 90 e, posteriormente, conservados em álcool 70% (Johansen, 1940).

Os cortes transversais foram realizados à mão livre, com auxílio de lâmina de barbear e inclusão do material em isopor. Após os cortes, foram submetidos ao processo de coloração com safra-blau, uma mistura de safranina com azul de astra (Kraus & Ardein, 1997).

A montagem das lâminas foi feita com água glicerinada e as fotomicrografias tomadas de fotomicroscópio Olympus Bx-60.

### **5.2.2 Análises anatômicas das estacas caulinares para observação de barreiras anatômicas ao enraizamento**

As estacas para a observação de presença de barreiras anatômicas foram coletadas junto com as estacas do experimento 1 e 2. As amostras constituíram-se de estacas com 6 cm de comprimento, do primeiro ao quinto nó, que corresponderam à porção mediana dos ramos ortotrópicos. Para cada nó foram

coletadas 5 repetições, totalizando assim 20 amostras. Os cortes foram realizados na base de cada estaca.

### **5.2.3 Análises anatômicas das estacas caulinares para observação do local de origem do primórdio radicular**

Para a determinação do local de origem das raízes foram utilizadas estacas após a emissão das mesmas para as duas cultivares. Para cada cultivar foram coletadas cinco repetições.

### **5.2.4 Análises anatômicas para comparação entre as raízes adventícias caulinares e raízes de plantas obtidas de sementes**

Para comparação entre as raízes das estacas e das plantas obtidas por semeadura direta em substrato, foram coletadas seis repetições para cada tipo de muda para as duas cultivares. As determinações da espessura da epiderme e córtex e do cilindro vascular da raiz foram efetuadas por meio de seções transversais de lâminas semipermanentes e com a utilização de ocular micrométrica em dois locais distintos de cada amostra.

Para a contagem dos feixes vasculares foram utilizados 18 cortes por tipo de muda. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e aplicou-se nas médias o teste de Scott Knott.

## **5.3 Estudo preliminar do sistema radicular de mudas obtidas por meio de estacas e de mudas obtidas de sementes**

Foi utilizado o sistema radicular total de três mudas provenientes de estaquia caulinar e três mudas provenientes de semeadura para cada cultivar que constituiu as repetições. As mudas foram formadas em sacolinhas de polietileno para mudas de meio ano de cafeeiro com 10 x 20 cm, contendo substrato

comercial Bioplant<sup>®</sup>. As mudas de estaquia foram formadas sem o uso de regulador de crescimento para o enraizamento.

Após coletadas, as mudas foram lavadas manualmente, utilizando peneiras (24 mesh) para evitar a perda de material. Após esse procedimento, as raízes obtidas foram colocadas em frascos de vidro contendo água destilada e algumas gotas de formaldeído P.A, sendo armazenadas em geladeira durante o período de medição.

A determinação do comprimento e dos diâmetros das raízes foram feitas no Laboratório de Ecofisiologia e Relações Hídricas de plantas do setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras. Utilizou-se o programa computacional QUANTRAÍZ, desenvolvido no setor de Geoprocessamento do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal de Viçosa. Esse software analisa imagens que são obtidas por meio da digitalização das raízes que foram dispostas criteriosamente sobre uma lâmina de vidro. Foi utilizado foi um scanner HP 4C acoplado a um PC e a resolução das imagens utilizada foi de 300 dpi. Os resultados obtidos foram gerados em planilha padrão Excel, onde foram tabulados.

Após a digitalização, as raízes foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 60°C, durante 72 horas, para determinação da massa seca total.

Os dados obtidos foram analisados por meio do procedimento Box Plot (Bussab & Morettin, 1987).

## **6 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **6.1 Variáveis analisadas após o enraizamento das estacas em casa de vegetação**

#### **6.1.1 Porcentagem de estacas enraizadas e calejadas aos 45 dias**

Não houve enraizamento até os 45 dias para nenhum tratamento. Os resultados da análise do desvio (ANODEV) para a porcentagem de estacas calejadas ao 45 dias são apresentados na Tabela 1A.

Para a porcentagem de estacas calejadas, a ANODEV revelou diferença significativa para o fator principal AIB e para a interação sacarose x AIB e aquecimento basal x sacarose x AIB para as duas cultivares. Para a 'Rubi', a interação aquecimento basal x AIB também foi significativa.

#### **'Acaiá'**

Os tratamentos (Aq=0 e Sac=0) e (Aq=1 e Sac=0) apresentaram as maiores porcentagens de estacas calejadas com 78,7% (5986 mg.L<sup>-1</sup>) e 75,2% (7932 mg.L<sup>-1</sup>), respectivamente (Figura 1). Os tratamentos Aq=0 e Sac=0 foram apenas 4,6% superiores ao segundo melhor resultado, mostrando, portanto, desempenho semelhante.

Os tratamentos (Aq=0 e Sac=1) e (Aq=1 e Sac=1) apresentaram as menores porcentagens de estacas calejadas, com 65,9% (8126 mg.L<sup>-1</sup>) e 41,8% (7025 mg.L<sup>-1</sup>), respectivamente.

Pode-se observar que para todos os tratamentos as porcentagens de calejamento na ausência de AIB foram muito baixas, menores que 7%. A presença de AIB proporcionou, portanto, um efeito positivo sobre o calejamento, com um mínimo de 41,8% e o máximo de 78,7%.

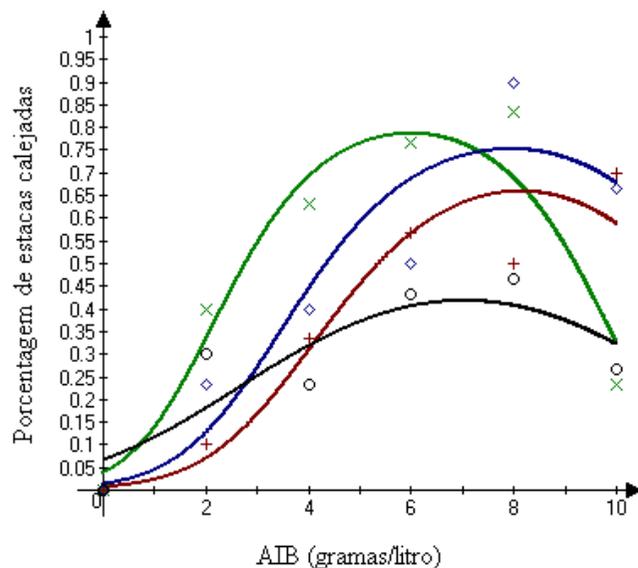
## **'Rubi'**

A cultivar Rubi apresentou valores bem menores para o calejamento. Apenas para os tratamentos  $Aq=1$  e  $Sac=0$  esse valor excedeu 50%, apresentando 61,7% de calejamento na concentração máxima estudada, 10.000  $mg.L^{-1}$ . Nos tratamentos  $Aq=1$  e  $Sac=1$ , essa porcentagem foi de 34,4% na concentração 7.842  $mg.L^{-1}$ . Nos tratamentos em que as estacas não tiveram aquecimento basal, as porcentagens máximas de calejamento ficaram abaixo de 20%. Para os tratamentos  $Aq=0$  e  $Sac=0$  ocorreu a porcentagem máxima de calejamento de 15,6% (7128  $mg.L^{-1}$ ) e para os tratamentos  $Aq=0$  e  $Sac=1$  apresentaram uma porcentagem máxima de calejamento de 13,7% (4.528  $mg.L^{-1}$ ) (Figura 2).

Analisando-se o comportamento das estacas de 'Acaiá' e 'Rubi', verificase que a sacarose não apresentou efeito positivo na porcentagem de calejamento nas estacas de cafeeiro.

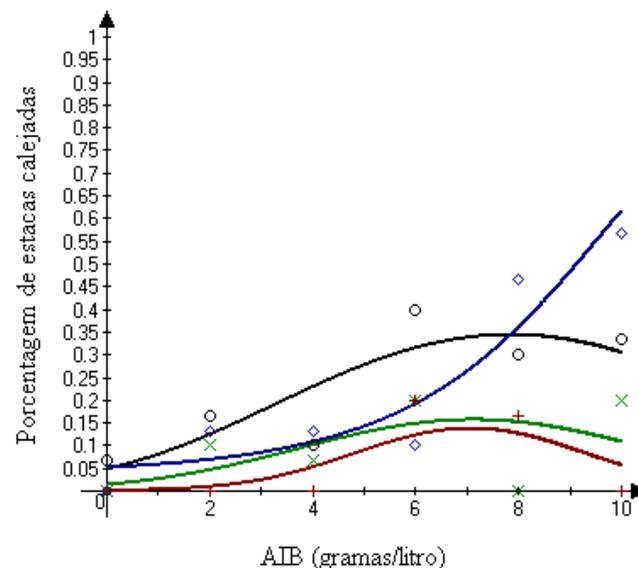
Para a cultivar Acaiá, o aquecimento basal não teve influência na porcentagem de estacas calejadas e para a cultivar Rubi, mostrou-se efetivo para aumentar a formação de calos. O mesmo resultado foi encontrado por Nelson & Tukey (1956) e Ashiru & Carlson (1968) para estacas de macieira.

O AIB mostrou-se benéfico, induzindo maior calejamento nas estacas das duas cultivares. Reanõ (1940) observou intensa formação de calos em estacas de cafeeiro, tratadas com auxinas, comparadas com outras sem o tratamento. Esse fato foi confirmado por Ono et al. (1992), em estacas de cafeeiro 'Mundo Novo'.



× Aq=0  
 Sac=0  $Y = e^{(-3,2045+1,5072X-0,1259X^2)} / (1 + e^{(-3,2045+1,5072X-0,1259X^2)})$   
 + Aq=0  
 Sac=1  $Y = e^{(-5,033+1,4010X-0,0862X^2)} / (1 + e^{(-5,033+1,4010X-0,0862X^2)})$   
 ◆ Aq=1  
 Sac=0  $Y = e^{(-4,319+1,3691X-0,0863X^2)} / (1 + e^{(-4,319+1,3691X-0,0863X^2)})$   
 ○ Aq=1  
 Sac=1  $Y = e^{(-2,6322+0,6547X-0,0466X^2)} / (1 + e^{(-2,6322+0,6547X-0,0466X^2)})$

**FIGURA 1** Percentagem de estacas calejadas, aos 45 dias, de cafeeiro 'Acaia', em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.



× Aq=0  
 Sac=0  $Y = e^{(-4,2879+0,7299X-0,0512X^2)} / (1 + e^{(-4,2879+0,7299X-0,0512X^2)})$   
 + Aq=0  
 Sac=1  $Y = e^{(-7,4467+1,5886X-0,1125X^2)} / (1 + e^{(-7,4467+1,5886X-0,1125X^2)})$   
 ◆ Aq=1  
 Sac=0  $Y = e^{(-2,9193+0,1087X+0,0231X^2)} / (1 + e^{(-2,9193+0,1087X+0,0231X^2)})$   
 ○ Aq=1  
 Sac=1  $Y = e^{(-2,9958+0,5991X-0,0382X^2)} / (1 + e^{(-2,9958+0,5991X-0,0382X^2)})$

**FIGURA 2** Percentagem de estacas calejadas, aos 45 dias, de cafeeiro 'Rubi' em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose, na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.

## **6.1.2 Porcentagem de estacas enraizadas**

### **6.1.2.1 Porcentagem de estacas enraizadas aos 90 dias**

Os resultados obtidos pela análise do desvio para a porcentagem observada de enraizamento aos 90 dias são mostrados na Tabela 2A. Pode-se verificar que os efeitos principais: aquecimento basal, AIB e as interações aquecimento basal x AIB e aquecimento basal x AIB e aquecimento basal x sacarose x AIB foram significativos para as duas cultivares. Observou-se ainda a interação significativa sacarose x AIB na cultivar Acaiá.

#### **‘Acaiá’**

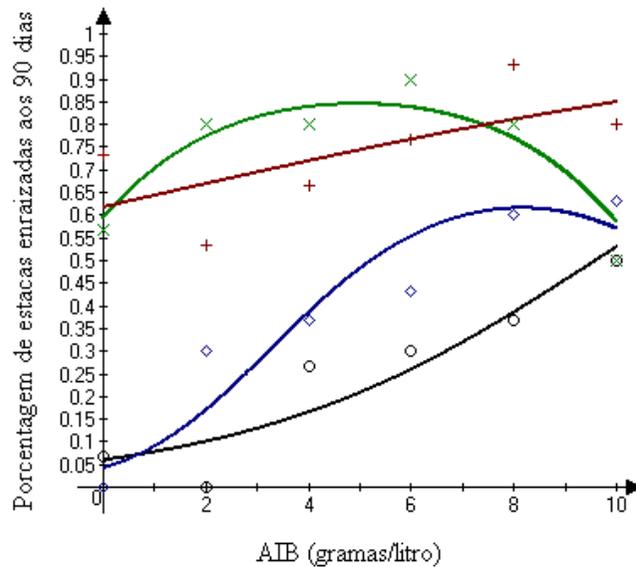
Para a cultivar Acaiá o desdobramento da interação aquecimento basal x sacarose x AIB teve efeito quadrático para todas as situações.

Nos tratamentos  $Aq=0$  e  $Sac=1$  a porcentagem máxima de enraizamento observada foi 85,4% (10.000 mg.L<sup>-1</sup>) e nos tratamentos  $Aq=0$  e  $Sac=0$  de 84,5% (4.963 mg.L<sup>-1</sup>). Na ausência de AIB, as porcentagens de enraizamento destes tratamentos foram de 62% e 60%, respectivamente (Figura 3). O uso de AIB proporcionou ganhos de 37,7% para os tratamentos  $Aq=0$  e  $Sac=1$  e de 40,8% para os tratamentos  $Aq=0$  e  $Sac=0$ .

Os tratamentos que proporcionaram menores porcentagens de enraizamento foram ( $Aq=1$  e  $Sac=1$ ) com 53,5% (10.000 mg.L<sup>-1</sup>) e os tratamentos ( $Aq=1$  e  $Sac=0$ ) com 61,5% (8.149 mg.L<sup>-1</sup>). Pode observar-se que para os tratamentos ( $Aq=1$  e  $Sac=1$ ) e ( $Aq=1$  e  $Sac=0$ ), na ausência de AIB, as porcentagens de estacas enraizadas foram menores que 6%.

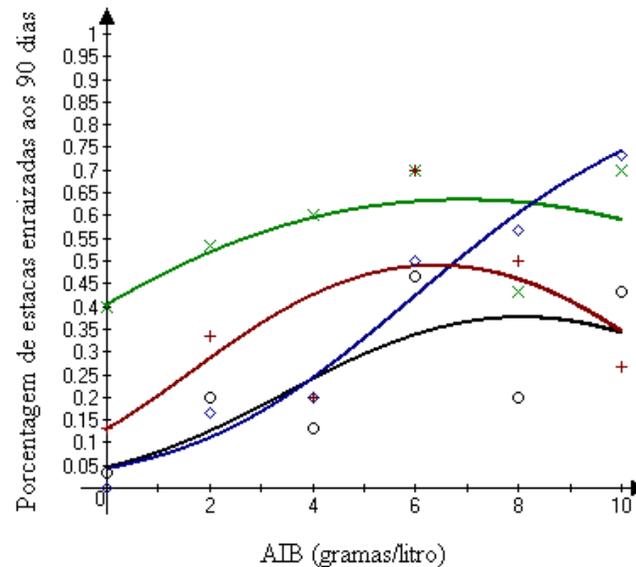
#### **‘Rubi’**

Para a cultivar Rubi, o desdobramento da interação aquecimento basal x sacarose x AIB também teve efeito quadrático para as 4 situações (Figura 4).



X Aq=0 Sac=0  $Y = e^{(-0,3871+0,5281X-0,0532X^2)} / (1 + e^{(-0,3871+0,5281X-0,0532X^2)})$   
 + Aq=0 Sac=1  $Y = e^{(0,479+0,1092X+0,0016X^2)} / (1 + e^{(0,479+0,1092X+0,0016X^2)})$   
 ◆ Aq=1 Sac=0  $Y = e^{(-3,1364+0,885X-0,0543X^2)} / (1 + e^{(-3,1364+0,885X-0,0543X^2)})$   
 ○ Aq=1 Sac=1  $Y = e^{(-2,7611+0,2832X+0,0005X^2)} / (1 + e^{(-2,7611+0,2832X+0,0005X^2)})$

**FIGURA 3** Porcentagem de estacas enraizadas, aos 90 dias, de caféiro 'Acaiaí' em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.



X Aq=0 Sac=0  $Y = e^{(-0,3895+0,2713X-0,0196X^2)} / (1 + e^{(-0,3895+0,2713X-0,0196X^2)})$   
 + Aq=0 Sac=1  $Y = e^{(-1,9051+0,5842X-0,0458X^2)} / (1 + e^{(-1,9051+0,5842X-0,0458X^2)})$   
 ◆ Aq=1 Sac=0  $Y = e^{(-3,1243+0,5471X-0,0129X^2)} / (1 + e^{(-3,1243+0,5471X-0,0129X^2)})$   
 ○ Aq=1 Sac=1  $Y = e^{(-3,0466+0,63X-0,0391X^2)} / (1 + e^{(-3,0466+0,63X-0,0391X^2)})$

**FIGURA 4** Porcentagem de estacas enraizadas, aos 90 dias, de caféiro 'Rubi' em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Pode observar-se que as maiores porcentagens de enraizamento foram de 74,2% para Aq=1 e Sac=0 na concentração máxima de AIB estudada (10.000 mg.L<sup>-1</sup>) e de 63,4% na concentração de 6.921 mg.L<sup>-1</sup> para os tratamentos Aq=0 e Sac=0. Para essas duas situações as porcentagens iniciais de enraizamento foram de aproximadamente 5% e de 40% na ausência do AIB, mostrando assim um aumento no enraizamento na ordem de 1.380% e de 57,5%, respectivamente. Na concentração máxima, os tratamentos Aq=1 e Sac=0 foram 17,8% superiores ao segundo melhor resultado Aq=0 e Sac=0.

### **6.1.2.2 Porcentagem total de estacas enraizadas**

Conforme a análise do desvio para a variável porcentagem de enraizamento total aos 180 dias, pode-se verificar que apenas o fator principal AIB foi significativo para as duas cultivares. Para a ‘Acaiá’, além deste, foi significativo o fator aquecimento basal e a interação aquecimento basal x sacarose x AIB. Para a cultivar Rubi, além do fator AIB, o fator sacarose foi significativo (Tabela 3A).

#### **‘Acaiá’**

As porcentagens observadas de estacas enraizadas total, aos 180 dias, para os tratamentos (Aq=0 e Sac=0) e (Aq=0 e Sac=1) foram iguais às observadas no enraizamento aos 90 dias. Em suas curvas ajustadas, esses tratamentos apresentaram praticamente os mesmos valores, continuando como as maiores porcentagens de enraizamento total com 84% (4.560 mg.L<sup>-1</sup>) e 86% (9.550 mg.L<sup>-1</sup>), respectivamente. Para as estacas sem o uso de AIB, as porcentagens foram de 71% e de 62,8%, respectivamente. As diferenças nas porcentagens de enraizamento, entre as concentrações de máxima resposta e na ausência de AIB, foram de 37% para Aq=0 e Sac=1 e de 18,3% para Aq=0 e Sac=0.

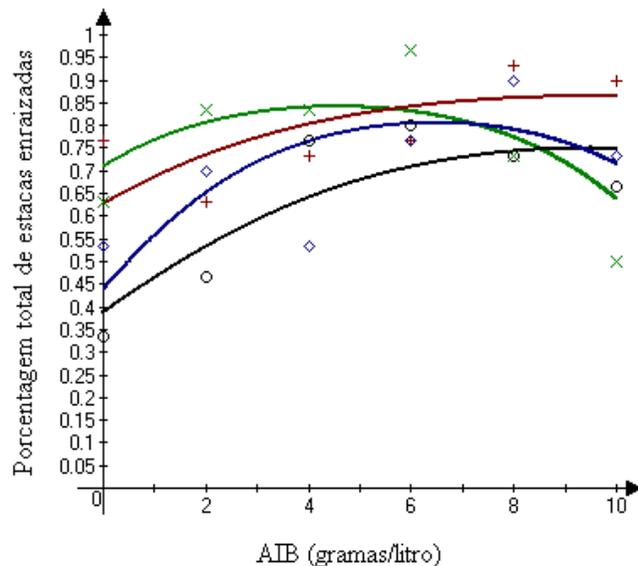
Os tratamentos (Aq=1 e Sac=0) e (Aq=1 e Sac=1) apresentaram como porcentagens máximas de enraizamento 81% (6.460 mg.L<sup>-1</sup>) e 75% (9.460 mg.L<sup>-1</sup>), respectivamente (Figura 5). Quando observa-se a porcentagem total de enraizamento nessas duas situações, verifica-se que as curvas descrevem um aumento menos pronunciado que das curvas para porcentagem de enraizamento aos 90 dias.

### **‘Rubi’**

Para a cultivar Rubi, os tratamentos que apresentaram os melhores desempenhos foram (Aq=1 e Sac=0) e (Aq=0 e Sac=0) com porcentagens de enraizamento total 83% (10.000 mg.L<sup>-1</sup>) e 68% (5.974 mg.L<sup>-1</sup>), respectivamente (Figura 6 ). Para esses tratamentos, as porcentagens de enraizamento na ausência de AIB foram de 28% e 49%, representando um acréscimo de 196,42% e de 38,77% nas melhores concentrações de AIB. Os tratamentos Aq=1 e Sac=0 responderam melhor às maiores concentrações de AIB, sendo 22% superior ao segundo melhor tratamento na concentração máxima estudada.

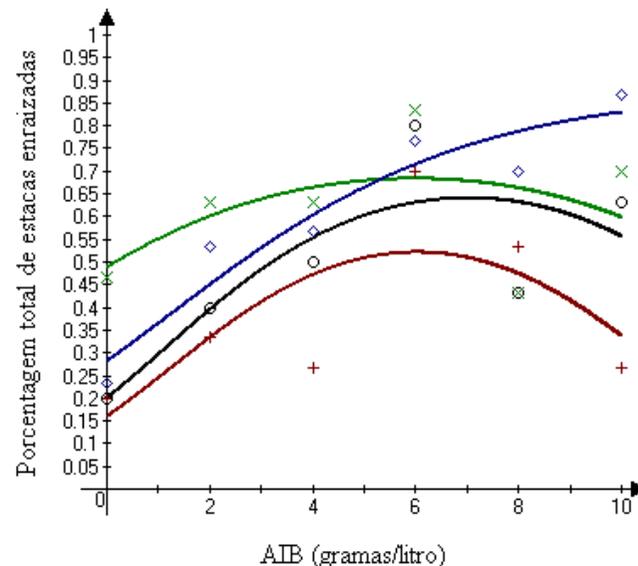
Os tratamentos que tiveram pior desempenho foram (Aq=0 e Sac=1) e (Aq=1 e Sac=1) com porcentagens de enraizamento 52% (6.024 mg.L<sup>-1</sup>) e de 64% (7.026 mg.L<sup>-1</sup>), respectivamente.

Para a cultivar Acaíá, a sacarose não teve efeito para a porcentagem de enraizamento. Observa-se que os melhores tratamentos são (Aq=0 e Sac=1) e (Aq=0 e Sac=0) e apresentaram praticamente as mesmas porcentagens de enraizamento, aos 90 e 180 dias, nos pontos de máxima resposta, diferindo apenas em 2,4%. Coelho et al. (2000) verificaram que a presença de sacarose não foi efetiva para a porcentagem de estacas enraizadas e para número médio de raízes por estacas em goiabeira (*Psidium guayava* L.) ‘Paluma’. Resultados semelhantes foram obtidos por Alves (1991), em estacas de aceroleira e Chalfun et al. (1992), em estacas do porta-enxertos de videira ‘RR 101-14’.



× Aq=0  
 Sac=0  $Y = e^{(-0,8972+0,3391X-0,0372X^2)} / (1 + e^{(-0,8972+0,3391X-0,0372X^2)})$   
 + Aq=0  
 Sac=1  $Y = e^{(0,5225+0,2788X-0,0146X^2)} / (1 + e^{(0,5225+0,2788X-0,0146X^2)})$   
 ◆ Aq=1  
 Sac=0  $Y = e^{(-0,2433+0,5156X-0,0399X^2)} / (1 + e^{(-0,2433+0,5156X-0,0399X^2)})$   
 ○ Aq=1  
 Sac=1  $Y = e^{(-0,4513+0,3275X-0,0173X^2)} / (1 + e^{(-0,4513+0,3275X-0,0173X^2)})$

**FIGURA 5** Percentagem total, aos 180 dias, de estacas enraizadas de cafeeiro 'Acaiaí' em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.



× Aq=0  
 Sac=0  $Y = e^{(-0,0461+0,2724X-0,0228X^2)} / (1 + e^{(-0,0461+0,2724X-0,0228X^2)})$   
 + Aq=0  
 Sac=1  $Y = e^{(-1,6582+0,5783X-0,048X^2)} / (1 + e^{(-1,6582+0,5783X-0,048X^2)})$   
 ◆ Aq=1  
 Sac=0  $Y = e^{(-0,9373+0,3967X-0,0145X^2)} / (1 + e^{(-0,9373+0,3967X-0,0145X^2)})$   
 ○ Aq=1  
 Sac=1  $Y = e^{(-1,3837+0,5579X-0,0397X^2)} / (1 + e^{(-1,3837+0,5579X-0,0397X^2)})$

**FIGURA 6** Percentagem total, aos 180 dias, de estacas enraizadas de cafeeiro 'Rubi' em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Para os tratamentos (Aq=1 e Sac=1) e (Aq=0 e Sac=1) que apresentaram os piores resultados para a cultivar Rubi, as porcentagens de enraizamento aos 90 dias não chegaram a 50% e no enraizamento total o melhor deles atingiu pouco mais de 68%. Esses resultados denotam que a sacarose teve um efeito negativo para a porcentagem de enraizamento para a cultivar Rubi. Gontijo et al. (2002a) constataram a superioridade na porcentagem de estacas de ‘Maracujazeiro-doce’ (*Passiflora edulis*) para estacas que não receberam sacarose exógena. Entretanto, a interação positiva de auxina exógena com sacarose tem sido observada no enraizamento de estacas de “mung bean” (Jarvins, 1986; Koukourikou-Petridou & Porlings, 1997), outras leguminosas (Loach & Whalley, 1978), de roseira (Farina & Verruggio, 1985), de oliveira (Del Rio et al. 1988) e de figueira (Pio, 2002).

As células da superfície cortada das estacas precisam transportar água, absorvendo-a do substrato para suprir a necessidade requerida para a maioria das reações químicas da estaca. O uso da água da estaca deve ser direcionado para a formação de novas raízes. Virskov & Eriksen (1982) sugerem como uma possível causa para o menor enraizamento de estacas com suprimento exógeno de sacarose a alteração do potencial osmótico exercendo forte influência sobre o balanço hídrico das estacas.

Para a cultivar Acaiá nos tratamentos (Aq=1 e Sac=0) e (Aq=0 e Sac=1), houve, em média um aumento na porcentagem de enraizamento de 35,94% dos 90 para os 180 dias, chegando a valores próximos aos dos melhores tratamentos.

Pode-se verificar que as porcentagens de enraizamento máximas não apresentam grandes diferenças, sendo uma variação de apenas 13,9% entre o pior e o melhor tratamento.

Assim, para essa cultivar, o aquecimento basal não aumentou a porcentagem de estacas enraizadas, constatando-se sim um efeito negativo, fato

evidenciado no enraizamento até os 90 dias, quando os piores tratamentos foram com aquecimento basal.

O aquecimento basal não apresentou efeito para as porcentagens de enraizamento total da 'Rubi', como pode ser observado nos dois melhores tratamentos (Aq=1 e Sac=0) e (Aq=0 e Sac=0). O melhor tratamento Aq=1 e Sac=0 na concentração 5.974 mg.L<sup>-1</sup>, ponto de máximo do tratamento Aq=0 e Sac=0, apresentou uma porcentagem de enraizamento de 71,4%, sendo esse valor superior em apenas 5% àqueles alcançados nesta concentração pelos tratamentos Aq=0 e Sac=0. Nos pontos de máxima resposta para os dois tratamentos, para enraizamento aos 90 e 180 dias, o aquecimento basal acrescentou, em média, 6,25% na porcentagem de enraizamento entre os melhores tratamentos sem e com aquecimento basal.

Ashiru & Carson (1968) observaram que o aquecimento basal em porta enxertos de macieira, East Malling II, induziram ao calejamento mas não o enraizamento. Prat et al. (1998) relatam que o aquecimento basal não teve efeito no enraizamento de estacas de clones de jojoba (*Simmondsia chinensis* (Link) Schneider) de fácil enraizamento. Alegre et al. (1998) verificaram que estacas de *Dorycnium hirsutum* tiveram maiores porcentagens de enraizamento em temperaturas mais baixas.

Essas observações divergem de outras publicações que recomendam o aquecimento do substrato para alcançar altas porcentagens de enraizamento, rápido enraizamento e o maior número de raíz por estaca (Carlson, 1966; Howard & Garner, 1965; Howard, 1968; 1978, 1980; Fuji & Nakano, 1974; Valle & Caldeira, 1981; Whalley & Loach, 1981; Albarazi & Schwabe, 1982; Kelly & Moser, 1983; Prasad & Rabbani, 1988; Lebrun et al. 1988; Prat et al. 1998; Oliveira, 2001).

Carpenter & Cornell (1992) afirmam que a maioria dos benefícios efetuados pelo aquecimento basal pode ser obtida pela aplicação da concentração ótima de auxinas.

Para as duas cultivares estudadas, os resultados mostram que o AIB favoreceu o enraizamento das estacas de cafeeiro, embora as estacas na ausência de AIB também tenham manifestado capacidade rizogênica, confirmando que o enraizamento depende do balanço entre auxinas aplicadas e ou naturais existentes na estaca, que atuam a nível celular (Tizio et al., 1963; Janick, 1966 e Hartman et al., 1997). O enraizamento está ainda condicionado à existência de determinadas relações entre as concentrações de auxinas e cofatores naturais e adicionais. Neste estudo, as concentrações de maiores respostas para as duas cultivares ficaram entre 4.963 mg.L<sup>-1</sup> e 1.0000 mg.L<sup>-1</sup>. Resultados semelhantes foram encontrados por Nachtigal et al. (1999), utilizando AIB em estacas de umezeiro (*Prunus mume* Sieb & Zucc.). Esses autores obtiveram porcentagem de enraizamento 300% maior que na testemunha.

Scarpate Filho et al. (1999) verificaram que o melhor resultado de enraizamento foi obtido com 8.000 mg.L<sup>-1</sup> (37,98%) de 3,24 vezes superior à porcentagem atingida na concentração de 100 mg.L<sup>-1</sup> (8,96%) em estacas herbáceas de jaboticabeira ‘Sabara’ (*Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg.).

Em estacas apicais de caramboleira (*Averrhoa carambola* L.) coletadas no verão, Bastos, (2002) observou que as concentrações que promoveram maior taxa de enraizamento foram as de 5.000 mg.L<sup>-1</sup> e de 7.000 mg.L<sup>-1</sup>. Em oliveira, Gautam & Chauhan (1990) relatam que melhores resultados de enraizamento foram obtidos em estacas tratadas com 5.000 mg.L<sup>-1</sup> de AIB.

O efeito benéfico do AIB no enraizamento de estacas, focalizando em especial altas concentrações (1.000 mg.L<sup>-1</sup> a 10.000 mg.L<sup>-1</sup>), já foi relatado por vários autores (Miranda et al., 2000; Tonietto et al., 2001; Dutra et al., 1999; Biasi et al., 2000; Dutra et al., 2002; Rufato et al., 2000; Mayer et al., 2001).

Para estacas de *Coffea arabica* 'Bourbom Amarelo' foi encontrado, na literatura, apenas um estudo com altas concentrações de AIB. Martins (1985), utilizando estacas tratadas com concentrações de 0, 300, 1.000, 3.000 e 10.000 mg.L<sup>-1</sup>, constatou que a porcentagem de estacas enraizadas não foi afetada pelas diferentes concentrações de AIB utilizadas.

As porcentagens de enraizamento obtidas neste estudo ficaram próximas às conseguidas por outros autores. Bergo (1997) obteve uma porcentagem de enraizamento aos 180 dias, com imersão em AIB (400 mg.L<sup>-1</sup>) por três horas, para a 'Acaiá' de 92,9% e de 62,6% para a 'Catuai'. Na ausência do regulador, os valores observados foram de 74% e de 44,3% respectivamente. O uso do AIB aumentou em 25,54% a porcentagem de estacas enraizadas da 'Ácaiá' e de 41% a da 'Catuai'. Pereira (2000), para a 'Mundo Novo', conseguiu uma porcentagem de enraizamento de 62% sem o uso de AIB. Em outro estudo do autor, esse valor subiu para 85% de enraizamento com a aplicação de ANA na concentração de 665 mg.L<sup>-1</sup>, independentemente do tempo de imersão na solução do regulador.

Ono et al. (1992) relataram que o AIB foi efetivo para o enraizamento (56,25%) e na ausência deste, não houve enraizamento de estacas da cultivar 'Mundo Novo'.

Como já relatado, as estacas de *Coffea arabica*, na ausência do AIB, também manifestam capacidade rizogênica, fato que tem levado alguns autores a afirmarem que elas não necessitam de auxina exógena. Geralmente, as porcentagens de enraizamento alcançadas são menores: 68% para a 'Mundo Novo' (Rezende, 1996) e 54% para 'Acaiá' e 'Mundo Novo' (Pereira, 2000). Alguns trabalhos, no entanto, relatam porcentagens superiores a 80% de enraizamento sem utilização de AIB (Arcila-Pulgarin & Valencia-Aristizábal, 1976 e Pereira, 2000).

As diferenças no potencial de enraizamento entre variedades e/ou cultivares da mesma espécie são relatadas por diversos autores, entre eles Piveta (1990); Prat et al. (1998); Rufato & Kersten (2000); Dutra, Kersten et al. (2002); Tofanelli et al. (2002) e Andrade & Martins (2003). Para *Coffea arabica*, Bergo (1997) afirma que, com base em seus dados, nos de Leite & Mendes (1995) e nos de Rezende (1996), há uma tendência das estacas provenientes de 'Mundo Novo' exibirem maior enraizamento que as de outras cultivares. Entretanto, Pereira (2000) obteve porcentagens elevadas de enraizamento para a cultivar Catuaí (88%) e Icatu (73%).

Em geral, neste estudo, a 'Rubi' apresentou porcentagens de enraizamento um pouco menores que as observadas para o 'Acaiá' embora para os tratamentos Aq=1e Sac=1, tenha atingido 74,4% aos 90 dias e 83% aos 180 dias.

## **6.2 Variáveis analisadas após a formação das mudas**

Os melhores tratamentos utilizados possibilitaram a formação de mudas em porcentagens aceitáveis para o uso comercial e com o padrão exigido pelo IMA (Anexo II Portaria N<sup>o</sup> 388/00, de 22/05/2000) no prazo de seis meses após o estaqueamento.

Para as variáveis da cultivar Rubi, os dados apresentados nas Figuras correspondentes a essa cultivar foram transformados para  $\log(x+1)$ . Assim, nos resultados são apresentados os valores transformados e entre parênteses o número natural equivalente a cada valor.

### **6.2.1 Número de mudas formadas a partir das estacas enraizadas aos 90 dias**

Os resultados da análise de variância do número de mudas formadas são mostrados na Tabela 4A. Pode-se notar que os efeitos principais, bem como as

interações, foram significativos com exceção da interação aquecimento basal x sacarose, para a cultivar Rubi. Para essa variável a porcentagem utilizada é equivalente ao dado observado apresentados nas figuras.

### **‘Acaiá’**

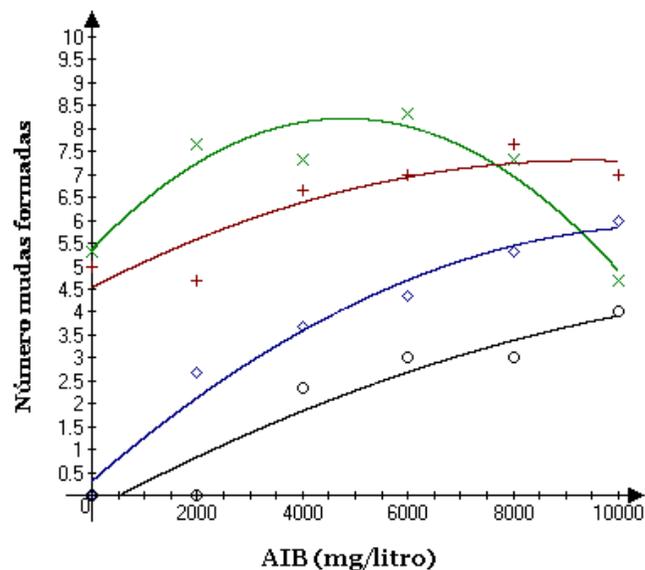
No desdobramento da interação aquecimento basal x sacarose x AIB, observa-se efeito quadrático para todas as situações. Observa-se que o número de mudas formadas aumenta até uma concentração de máxima resposta e reduz a seguir (Figura 7). Nos tratamentos nos quais as estacas não foram submetidas ao aquecimento basal os índices de formação de mudas foram de 73,1% (9.419 mg.L<sup>-1</sup> de AIB) e de 82,2% (4.807 mg.L<sup>-1</sup> de AIB) para os tratamentos Aq=0 e Sac=1 e para os tratamentos Aq=0 e Sac=0. Na ausência do AIB, para as duas situações, a formação de mudas teve um índice de aproximadamente 50%.

Os tratamentos que proporcionaram menores porcentagens de formação de mudas, 39% e 58%, foram (Aq=1 e Sac=1) e os (Aq=1 e Sac=0), respectivamente, na concentração máxima estudada de 10.000 mg.L<sup>-1</sup> de AIB. Assim como foi observado para a porcentagem de estacas enraizadas aos 90 dias, na ausência de AIB, esses tratamentos apresentaram apenas 5% de mudas formadas.

### **‘Rubi’**

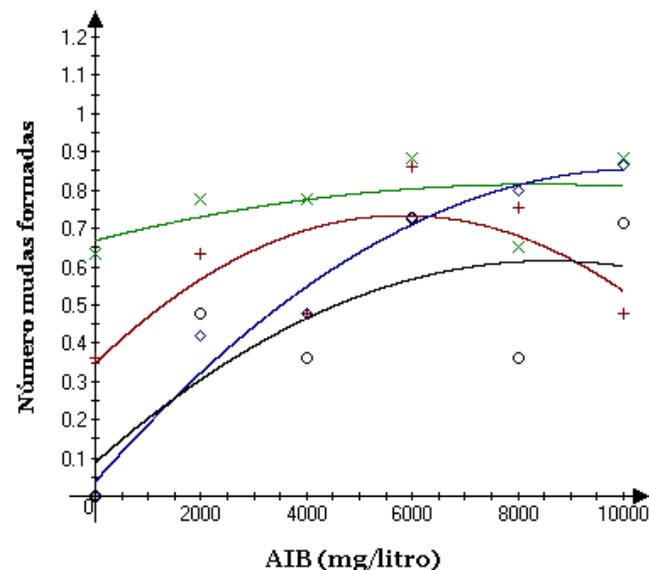
Para a cultivar Rubi, o desdobramento da interação aquecimento basal x sacarose x AIB também teve efeito quadrático para as quatro situações (Figura 8).

Os tratamentos que apresentaram melhores resultados com 61,5% (0,854 (6,15 mudas)), na concentração máxima de AIB estudada, foram os tratamentos Aq=1 e Sac=0 e 56% (0,82 (5,6 mudas)) na concentração de 8.393 mg.L<sup>-1</sup> para os tratamentos Aq=0 e Sac=0. No caso do tratamentos Aq=0 e Sac=0, é



×	Aq=0 Sac=0	$Y = 5,369047 + 0,001187 X - 1,235119 \times 10^{-7} X^2$	$R^2 = 0,894$
+	Aq=0 Sac=1	$Y = 4,535714 + 0,000589 X - 3,125000 \times 10^{-8} X^2$	$R^2 = 0,807$
◇	Aq=1 Sac=0	$Y = 0,309524 + 0,000999 X - 4,464286 \times 10^{-8} X^2$	$R^2 = 0,976$
○	Aq=1 Sac=1	$Y = -0,321429 + 0,000617 X - 1,934523 \times 10^{-8} X^2$	$R^2 = 0,901$

**FIGURA 7** Número médio de mudas formadas de caféiro 'Acaí' em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.



×	Aq=0 Sac=0	$Y = 0,668536 + 0,000035 X - 2,081272 \times 10^{-9} X^2$	$R^2 = 0,284$
+	Aq=0 Sac=1	$Y = 0,347229 + 0,000133 X - 1,137062 \times 10^{-8} X^2$	$R^2 = 0,571$
◇	Aq=1 Sac=0	$Y = 0,037723 + 0,000158 X - 7,619134 \times 10^{-9} X^2$	$R^2 = 0,969$
○	Aq=1 Sac=1	$Y = 0,087842 + 0,000123 X - 7,144339 \times 10^{-9} X^2$	$R^2 = 0,588$

**FIGURA 8** Número médio de mudas formadas de caféiro 'Rubi' em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.

importante ressaltar que a equação de ajuste é pouca explicativa, dado o baixo valor do  $R^2=0,284$ , pois, nestes tratamentos  $Aq=0$  e  $Sac=0$ , obtiveram-se nas dosagens de  $6.000 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $10.000 \text{ mg.L}^{-1}$ , porcentagens observadas de 65%, isto é, 16% a mais que o máximo de 61,5% dos tratamentos  $Aq=1$  e  $Sac=0$ .

Nos tratamentos  $Aq=0$  e  $Sac=1$ , a formação de mudas foi de 43,7% (0,73 (4,37 mudas)) e de 30,7% (0,61 (3,07 mudas)) para os tratamentos  $Aq=1$  e  $Sac=1$ .

Como para a 'Acaíá', pode-se observar, para os tratamentos  $Aq=1$  e  $Sac=1$  e para os tratamentos  $Aq=1$  e  $Sac=0$ , que um número baixo de mudas foram formadas nas menores concentrações de AIB. Nestas situações, na ausência de AIB, não se observou a formação de mudas.

Comparando-se as Figuras 3 com a 7 e 4 com a 8, observa-se que o comportamento da variável porcentagem de mudas formadas foi semelhante ao da porcentagem de estacas enraizadas aos 90 dias. Isso era esperado porque as mudas formadas são oriundas dessas estacas e houve alta porcentagem de sobrevivência após o transplante para todos os tratamentos, como pode ser observado na Tabela 1. Essa porcentagem chegou a 97,27% de mudas em relação à porcentagem de estacas enraizadas aos 90 dias para os tratamentos  $Aq=0$  e  $Sac=0$  na cultivar Acaíá. Resultado semelhante foi encontrado por Dutra (1995) e Berhe & Negash (1998) que tiveram sucesso no estabelecimento de 80% ou mais das estacas enraizadas de pessegueiro (*Prunus persica*) e de *Juniperus procera* Hochst. Ex Endl, respectivamente.

Esses resultados diferem dos de Walley & Loach (1981), que conseguiram pouco mais de 50% de estabelecimento de estacas enraizadas de *Acer saccharinum* e *Laburnum x vossi* nos melhores tratamentos.

A maior dificuldade no estabelecimento de estacas com raízes externamente visíveis no viveiro pode ocorrer porque essas raízes esgotam as reservas das estacas, que ainda não estão fotossintetizando suficientemente ou

porque sejam ainda funcionalmente ineficientes ou porque não se recuperaram das injúrias causadas durante o transplântio. Segundo Larson (1980), esse estresse causa muitos problemas fisiológicos ou até mesmo a morte da planta. A chave para a sobrevivência e crescimento após o transplântio pode ser o rápido reestabelecimento da absorção pelo sistema radicular (Perkins & Kling, 1987).

Tomando como base as porcentagens das estacas enraizadas aos 90 dias, no ponto de máxima resposta dos tratamentos e suas respectivas porcentagens de mudas formadas, pode-se estimar a porcentagem de mudas formadas total (Tabela 1).

**TABELA 1** Porcentagem de estacas enraizadas aos 90 dias, de mudas formadas, de pegamento, de enraizamento total e porcentagem estimada de mudas formadas para as concentrações de máxima resposta ao AIB. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Tratamentos	% Estacas enraizadas	% Mudas formadas	% pegamento	% Enraizamento total	% Mudas formadas	
'Acaia'	AQ=0 e SAC=0	84,5	82,2	97,3	84,0	82,2
	AQ=0 e SAC=1	85,5	73,1	85,6	86,0	73,1
	AQ=1 e SAC=0	61,4	58,0	94,3	81,0	76,4
	AQ=1e SAC=1	53,5	39,0	72,9	75,0	54,7
'Rubi'	AQ=0 e SAC=0	63,4	56,0	88,3	68,0	60,1
	AQ=0 e SAC=1	48,9	43,7	89,4	83,0	52,4
	AQ=1 e SAC=0	74,2	62,0	83,6	52,0	69,4
	AQ=1 e SAC=1	37,5	30,7	81,9	64,0	46,5

As análises entre os desvios da porcentagem de estacas calejadas e porcentagem de estacas enraizadas total não evidenciaram correlações entre essas duas variáveis. Ao observar as Figuras 9 e 10, pode-se visualizar esse fato. A cultivar Rubi teve um calejamento baixo em relação à porcentagem de enraizamento na maioria das situações e, para a 'Acaia', mesmo tendo uma porcentagem maior de calejamento, o enraizamento total também foi superior ao calejamento. Para os tratamentos Aq=1 e Sac=1 esse resultado foi bem evidente.

Isso contraria observações de que, após a formação do calo, as células diferenciam-se e surgem raízes (Ferri, 1979; Shimoya & Gomide, 1969).

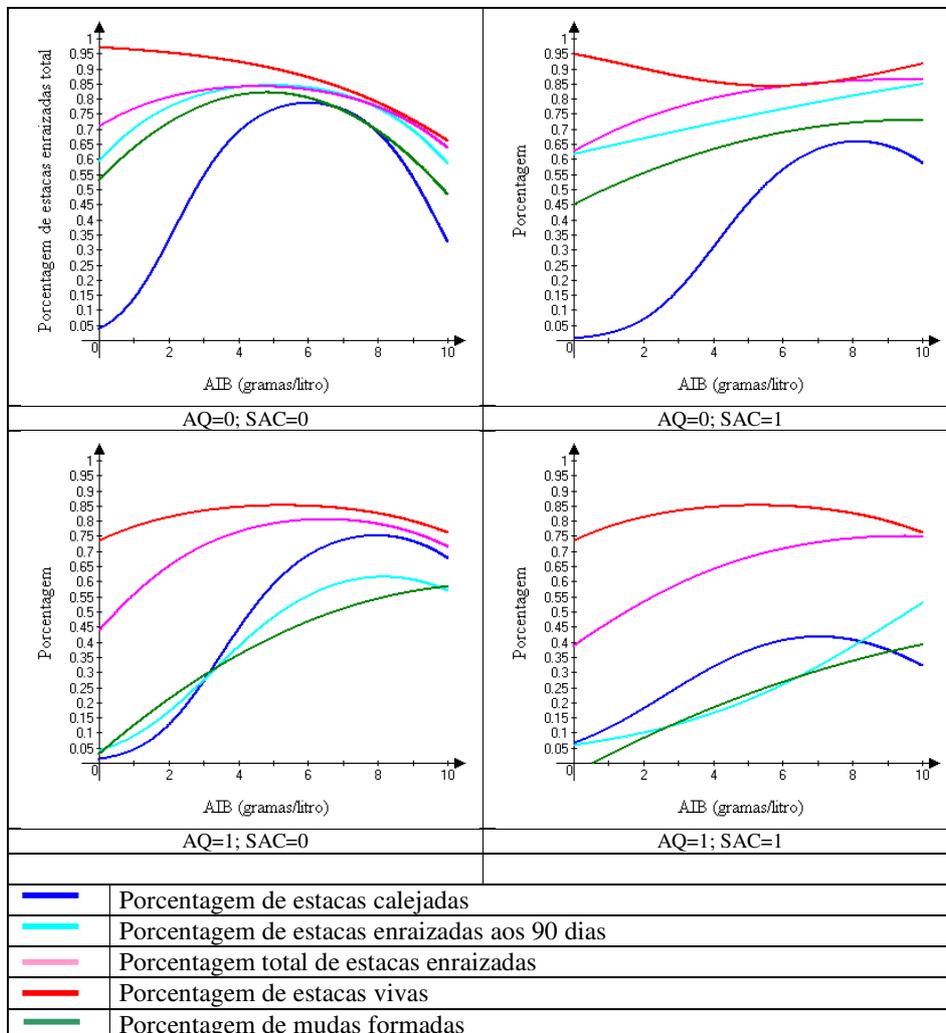
Mayer et al. (2001) afirmam que em função da elevada porcentagem de enraizamento (91,88%) observada nos tratamentos com AIB em estacas de umezeiro (*Prunus mume* Sieb & Zucc.), a porcentagem de calos foi muito baixa (0,63%).

Carrera & Garcia (1977), citados por Silva (1985), afirmam que o calo é uma formação regenerativa que ocorre, principalmente, pelo estímulo da atividade cambial. Tanto para esses autores como para Hartmann et al. (1997) a formação de calo e de raízes são processos fisiológicos independentes para a maioria das plantas. A ocorrência simultânea é porque as condições interna e ambientais são semelhantes para os dois processos. Assim, as estacas, quando colocadas em condições favoráveis ao enraizamento, podem desenvolver na extremidade basal o calo.

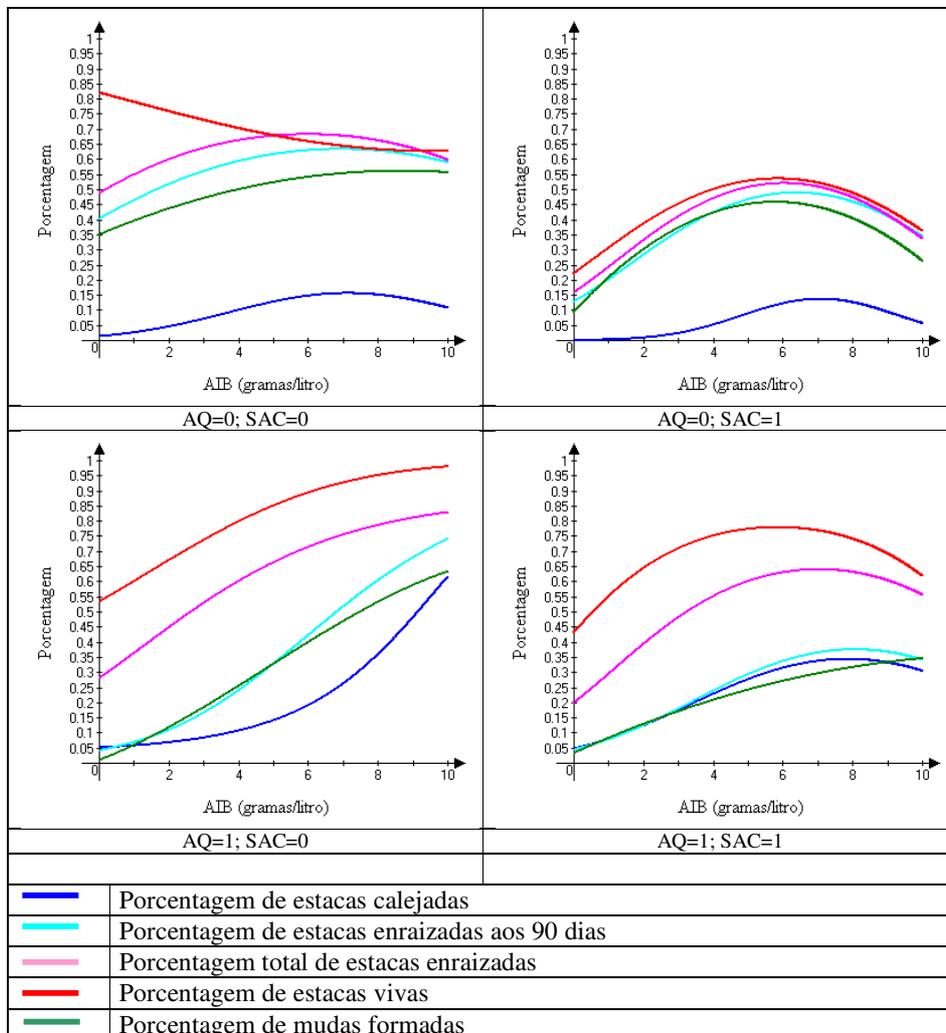
Ono et al. (1992) observaram que os calos formados sobre as estacas de *Coffea arabica* não se diferenciaram em raízes, pois os tratamentos com maiores porcentagens de calejamento foram os que alcançaram menores porcentagens de enraizamento.

As observações neste trabalho concordam com os relatos anteriores, apesar da observação de Fadelli & Sera (2001) de que apenas o calejamento, em leito de enraizamento, não é suficiente para a formação de mudas de café por meio de estaquia.

A cultivar Acaiá apresentou para os tratamentos (Aq=0 e Sac=0) e (Aq=0 e Sac=1) as mesmas porcentagens de enraizamento aos 90 dias e total aos 180 dias. Isto mostra que a porcentagem total de enraizamento ocorreu aos 90 dias.



**FIGURA 9** Comparações entre as porcentagens de estacas calejadas enraizadas aos 90 dias e 180 dias de mudas formadas e porcentagens de estacas vivas ao final do estudo para ‘Acaiá’. UFLA, Lavras, MG, 2003.



**FIGURA 10** Comparações entre as porcentagens de estacas calejadas enraizadas aos 90 dias e 180 dias de mudas formadas e porcentagens de estacas vivas ao final do estudo para 'Rubi'. UFLA, Lavras, MG, 2003.

A porcentagem de enraizamento aos 180 dias foi maior que aos 90 dias, para todos os tratamentos da cultivar Rubi, principalmente para os tratamentos com aquecimento basal (Aq=1).

As estacas submetidas ao aquecimento basal foram as que mais enraizaram após 90 dias (Figura 9 e Figura 10). Esse fato pode estar relacionado à grande mobilização de carboidratos durante a exposição ao aquecimento basal (Whalley & Loach, 1981; Cheffins & Howard, 1982a e 1982b). As estacas de *Coffea arabica* podem não ter tido a quantidade de carboidratos necessária para atender a essa demanda. Durante o período de enraizamento, as estacas receberam adubações foliares periódicas, apesar de se ter conhecimento que a absorção seria reduzida, dada a idade das folhas remanescentes na estaca. Depois do período de 90 dias, quando as brotações começaram a se desenvolver, a absorção de nutrientes e o processo fotossintético passaram a ser mais eficientes e as estacas passaram a suprir a demanda necessária de carboidratos para o enraizamento. Pode-se observar, mais uma vez, que o fornecimento exógeno de sacarose não foi efetivo como fornecimento de carboidratos para o enraizamento.

Outro motivo para esse enraizamento posterior pode ter sido a não satisfação da grande necessidade de água pelos leitos aquecidos (Whalley & Loach, 1981). Neste trabalho, a quantidade de água foi a mesma para os dois leitos, com e sem aquecimento e ainda observou-se que o leito aquecido perdia água por infiltração da laje de contenção. Essa perda foi minimizada com o fechamento dos drenos após os 90 dias.

Em geral, o crescimento da parte aérea é dependente do crescimento de raízes. Assim, pode-se observar que as mudas oriundas do aquecimento basal apresentaram pesos de matéria seca das raízes de até 0,86 gramas e da parte aérea 1,7 grama. Esses valores estão bem acima dos relatados pelos autores que trabalharam com *Coffea arabica* citados neste estudo, embora essa comparação não seja muito apropriada, uma vez que, na maioria deles, não fica evidenciado se houve formação de mudas. Em geral, a maioria dos trabalhos realizados com estaquia é sobre a resposta ao enraizamento propriamente, mas dados avaliando

o subsequente crescimento e sobrevivência das estacas sob condições de viveiro e campo são poucos.

A porcentagem de enraizamento poderia ter sido bem maior, caso não tivesse ocorrido morte das estacas por doença causada por fungos. O resumo da análise do desvio para porcentagem de estacas vivas é apresentado na Tabela 5A. Principalmente nos tratamentos sem indução por aquecimento basal, pode-se observar, nas Figuras 9 e 10 que acima da concentração de 4.000 mg.L<sup>-1</sup> praticamente todas as estacas vivas enraizaram. Se apenas essas estacas fossem consideradas para calcular a porcentagem de enraizamento, esta teria sido bem maior.

Alguns autores associam a porcentagem de sobrevivência das estacas com o uso do AIB. O AIB levando a um enraizamento mais rápido mantém o status hídrico da estaca e impede a desidratação dos tecidos (Scarpate Filho et al., 1999). Outros autores ainda citam que as aplicações exógenas de auxinas podem retardar a senescência dos tecidos (Arteca, 1996).

Bergo (1997) verificou que a porcentagem de estacas vivas com a aplicação de AIB na concentração de 400 mg.L<sup>-1</sup> por 3 horas, foi maior para ‘Acaiá’ e ‘Catuaí’. Em estacas de pessegueiro ‘Coral’, ‘Ouro’ e da nectarineira ‘Sun Red’, Biasi et al. (2000) relatam que o aumento da concentração de AIB foi acompanhado da diminuição da porcentagem de estacas mortas.

Faria & Sacramento (2003) constataram que o uso do AIB aumentou a sobrevivência de estacas de cacaueteiro dos clones TSH 516 TSH 1188 e não teve influência sobre o do clone CEPEC 42.

Outros autores associam o uso do AIB ao aumento da mortalidade das estacas, como Pereira (2000) e Martins (1985), que observaram que, à medida que aumentaram a concentração de AIB, ocorreu menor sobrevivência das estacas de *Coffea arabica*.

Alguns autores relatam ainda que não encontram associação entre o regulador e a sobrevivência das estacas, como por exemplo, Andrade & Martins (2003). Em estacas de citros, esses autores observaram que a maioria da porcentagem de sobrevivência foi para a testemunha (81,80%) embora não tenha diferido das estacas tratadas com 400 mg.L<sup>-1</sup> (71,08%).

Howard (1968) observou a ocorrência de apodrecimento de estacas de macieira e que esse foi maior nos tratamentos com altas concentrações de AIB. O autor, no entanto, afirma que o tratamento com auxina pode predispor a estaca ao apodrecimento, mas não é a causa dos danos.

A morte das estacas, neste estudo, foi causada por fungos identificados como *Fusarium* spp e *Colletotrichum* spp. O tratamento profilático não foi efetivo para o controle. A partir da identificação destes patógenos, um controle específico foi iniciado. Ocorrência semelhante foi encontrada por Ferreira & Cereda (1999) e Ramirez et al. (1999), que relatam mortes de estacas associadas à podridão por microorganismos. Os últimos autores relataram que as porcentagens de morte em seus estudos em estacas de goiabeira (*Psidium guajava* L.) flutuaram entre 70% e 98%.

Graça (1990) observou o crescimento de *Colletotrichum gloesporioides* e bactérias a ponto de comprometer o enraizamento de estacas de maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* sinus). Também com maracujazeiro-azedo, Oliveira et al. (2002) tiveram de 18,2% a 68% de estacas mortas pelo mesmo fungo que causou necrose e morte das estacas. Isso é comum no enraizamento de estacas sob nebulização (“mist”). A despeito da nebulização constituir uma inovação ao processo de enraizamento especialmente indicado para as estacas com folhas, porque inibe a transpiração e força a estaca a conservar água para o processo de formação das novas raízes, ela tem o inconveniente de aumentar os problemas com doenças. A lâmina de água livre que permanece sobre as folhas é favorável à germinação de esporos ou como no caso do *Fusarium* spp., a constante

lavagem do acérvulo leva à germinação do mesmo. Assim, é necessário um controle rigoroso desses contaminantes durante o enraizamento.

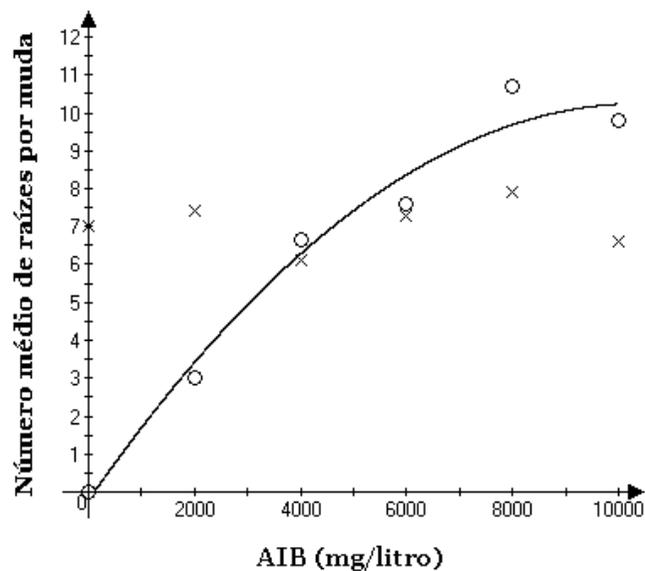
## **2.2 Número de raízes por muda**

Os resultados obtidos pela análise de variância do número observado de raízes formadas em mudas provenientes de estacas de café ‘Acaiá’ e ‘Rubi’ são mostrados na Tabela 6A. Pode-se verificar que os efeitos principais do aquecimento basal, AIB e as interações aquecimento basal x AIB e sacarose x AIB foram significativos para as duas cultivares. Observaram-se interações significativas entre aquecimento basal x sacarose na cultivar Acaiá e aquecimento basal x sacarose x AIB na cultivar Rubi.

### **‘Acaiá’**

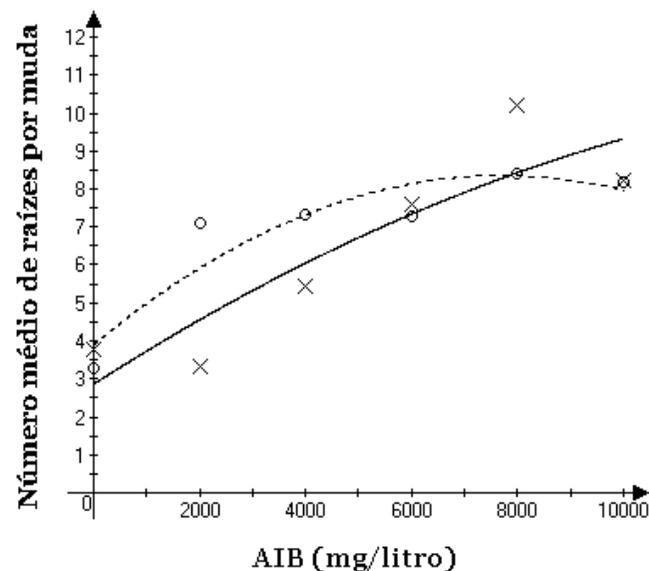
Quando as estacas foram submetidas ao aquecimento basal ( $Aq=1$ ), o número médio de raízes apresentou resposta crescente até a concentração máxima de AIB ( $10.000 \text{ mg.L}^{-1}$ ), obtendo-se 10,23 raízes. Para as estacas que não tiveram a indução por aquecimento basal ( $Aq=0$ ), não houve diferenças significativas, com um número médio de raízes por muda de 7,03. Pode-se observar que o uso do aquecimento basal associado ao AIB na concentração de  $10.000 \text{ mg.L}^{-1}$  incrementou em 45,5% o número médio de raízes por muda, com relação àquelas sem aquecimento basal, como pode ser observado na Figura 11.

Nas estacas que não receberam fornecimento exógeno de sacarose ( $Sac=0$ ), o maior número médio de raízes por muda (8,35) foi obtido na concentração de  $7.717 \text{ mg.L}^{-1}$  de AIB. Para as estacas que receberam esse fornecimento ( $Sac=1$ ), a resposta foi crescente até a concentração máxima de AIB (9,32 raízes/muda) (Figura 12).



× Aq=0 Y médio= 7,0 raízes/muda  
 ○ Aq=1  $Y = -0,217673 + 0,002010 X - 9,653794 \times 10^{-8} X^2$   $R^2 = 0,975$

**FIGURA 11** Número médio de raízes por muda de cafeeiro 'Acaiá' em função das concentrações de AIB e do aquecimento basal na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.



× — Sac=1  $Y = 2,861024 + 0,000896 X - 2,505058 \times 10^{-8} X^2$   $R^2 = 0,806$   
 ○ - - - Sac=0  $Y = 3,904726 + 0,001153 X - 7,473348 \times 10^{-8} X^2$   $R^2 = 0,850$

**FIGURA 12** Número médio de raízes por muda de cafeeiro 'Acaiá' em função das concentrações de AIB e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Nos tratamentos em que as estacas receberam fornecimento exógeno de sacarose observou-se que o número médio de raízes foi menor para aquelas que foram submetidas ao aquecimento basal do que para as que não o foram. Aquelas que não receberam o fornecimento exógeno de sacarose não foram influenciadas pelo aquecimento basal quanto ao número médio de raízes (Tabela 2).

**TABELA 2** Número médio de raízes por muda de cafeeiro ‘Acaíá’, em função do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.

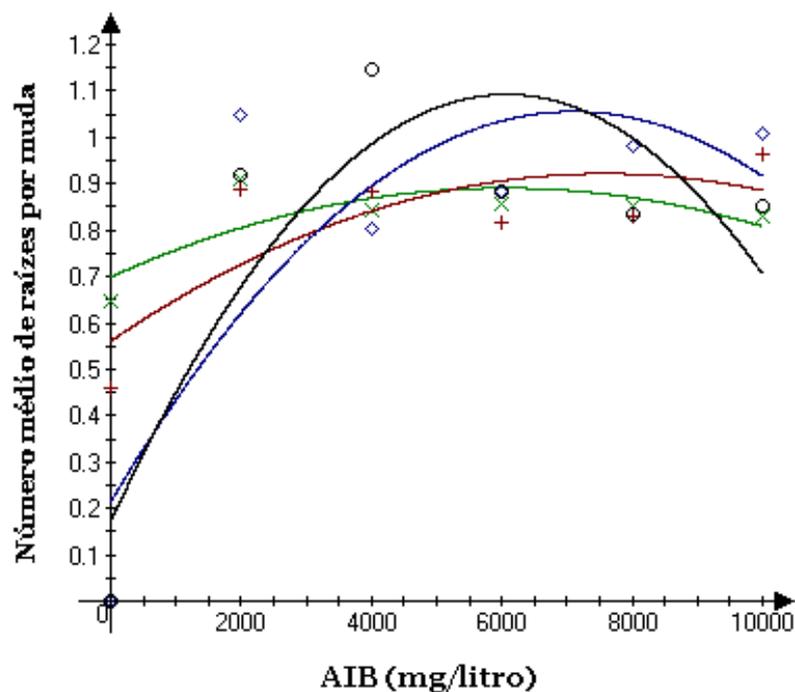
	Número médio de raízes por muda	
	Sem sacarose	Com sacarose
Sem aquecimento	6,8079 aA	7,3177 aA
Com aquecimento	7,0552 aA	5,5315 bB

Médias seguidas da mesma letra minúscula na horizontal e maiúscula na vertical não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade.

### ‘Rubi’

Na cultivar Rubi os maiores valores de número médio de raízes 1,09 (11,3) raízes/muda e 1,06 (10,5) raízes/muda, foram obtidos nos tratamentos Aq=1 e Sac=1 e nos tratamentos Aq=1 e Sac=0, respectivamente. Para se obter esse número máximo de raízes nos tratamentos Aq=1 e Sac=0 foi necessária uma concentração maior de AIB, 7.100 mg.L<sup>-1</sup>, comparativamente aos 6.064 mg.L<sup>-1</sup> de AIB necessários para os tratamentos aq =1 e Sac=1 (Figura 13).

Os tratamentos e Aq=0 e Sac=0 tiveram seus maiores números de raízes por muda na concentrações de 6.034 mg.L<sup>-1</sup> de AIB (0,89 (6,76 raízes)) e os tratamentos Aq=0 e Sac=1 apresentaram maiores números de raízes por muda na concentração de 7.581 mg.L<sup>-1</sup> de AIB (0,92 (7,32) raízes/muda).



- × (Aq=0 e Sac=0) :  $Y = 0,698820 + 0,000064 X - 5,265491 \times 10^{-9} X^2$   $R^2 = 0,59$
- + (Aq=0 e Sac=1) :  $Y = 0,561122 + 0,000095 X - 6,275415 \times 10^{-9} X^2$   $R^2 = 0,62$
- ◇ (Aq=1 e Sac=0) :  $Y = 0,213678 + 0,000237 X - 1,669948 \times 10^{-8} X^2$   $R^2 = 0,65$
- (Aq=1 e Sac=1) :  $Y = 0,171494 + 0,000304 X - 2,503891 \times 10^{-8} X^2$   $R^2 = 0,74$

FIGURA 13 Número médio de raízes por muda de cafeeiro 'Rubi' em função das concentrações de AIB, aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose, na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Pode-se observar que o número médio de raízes nos tratamentos Aq=0 e Sac=0 e Aq=0 e Sac=0 sem aquecimento basal, com e sem sacarose, situou-se em torno de 7,0 raízes/muda, ou seja, 54,7% menor que os números médios de raízes obtidos nos tratamentos Aq=1 e Sac=0 e Aq=1 e Sac=1 que, em média, foi de 10,89 raízes/muda. Pode-se ainda observar que as curvas ajustadas para as

estacas sem aquecimento descrevem uma trajetória com menores variações entre as concentrações do que as curvas ajustadas para as estacas com aquecimento basal, nas quais verifica-se um aumento maior do número raízes em função das concentrações de AIB.

A presença de sacarose diminuiu o número de raízes para a 'Acaiá' e não teve efeito para a 'Rubi'. Coelho et al. (2001) também não encontraram efeito significativo da sacarose no número de raízes por estaca e Gontijo et al. (2002b) observaram que os tratamentos sem sacarose foram melhores para o maracujazeiro.

Howard (1968) verificou que o número de raízes por estaca de macieira foi maior com o aumento das concentração de AIB associado ao aquecimento basal, atingindo o número máximo em 5.000 mg.L<sup>-1</sup>. Albazari & Schuwabe (1982) também obtiveram resultados semelhantes para estacas de *Pistacia vera*.

Faria & Sacramento (2003), em estacas de cacauzeiro tratadas com AIB em forma de pó na concentração de 6.000 mg.L<sup>-1</sup>, conseguiram número médio de raízes entre 7,2 e 9,0, superiores àqueles obtidos em estacas não tratadas com média entre 3,9 e 5,9 raízes por estaca para todos os clones estudados. Oliveira (2001) observou que as concentrações maiores de AIB proporcionam maior número de raízes, em estacas de oliveira, sendo a melhor concentração a de 5.000 mg.L<sup>-1</sup>.

Martins (1985), para a cultivar Bourbon Amarelo, obteve maior número de raízes com o aumento da concentração de auxinas, em média, 6,0 raízes por estaca na concentração de 10.000 mg.L<sup>-1</sup>. Bergo (1997) não observou efeito significativo do AIB, mas obteve para a 'Acaiá' o maior número de raízes (6,05 raízes) para estacas tratadas com AIB, enquanto que para a 'Rubi' as estacas sem tratamento foram aquelas com maiores números de raízes (4,54 raízes). Ono et al. (1993) e Pereira (2000) relataram que a utilização de auxinas aumentou o

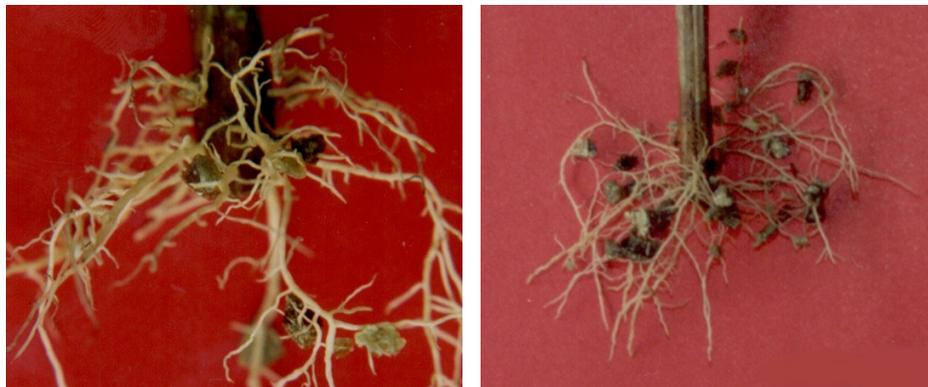
número médio de raízes por estaca em 'Mundo Novo', sendo o número médio de raízes por estaca em torno de 5,0 e 4,0, respectivamente

O efeito do AIB no número de raízes já foi estudado por vários autores (Rufato et al., 2000; Rufato & Kersten, 2000; Biasi et al., 2000; Mayer et al., 2001; Tonieto et al., 2001; Dutra et al., 2002; Tofanelli et al., 2002; Andrade & Martins, 2003; Faria & Sacramento, 2003).

Embora não tenham sido realizadas análises estatísticas para o número de raízes, por falta de ajuste dos dados observados aos modelos estatísticos, e qualidade do sistema radicular, por ser um método destrutivo, formado aos 90 dias, visualmente pode-se observar que o aquecimento proporcionou um maior comprimento da região enraizada (Figura 14). As raízes também mostraram-se mais finas e com maior número de raízes secundárias, responsáveis pela absorção de nutrientes.

Nas estacas sem aquecimento basal a região de enraizamento restringiu-se à base cortada das estacas (Figura 15). As raízes originadas apresentaram-se com maior espessura, assemelhando-se às raízes pivotantes e com reduzida presença de raízes secundárias.

Comparando-se o número médio de raízes das estacas aos 90 dias e o número médio de raízes das mudas formadas, observa-se que em todos os tratamentos que formaram mudas, o número de raízes aumentou em todos os tratamentos para a 'Acaiá' (Figura 16) e diminuiu apenas na ausência do AIB para a 'Rubi' (Figura 17). Resultado semelhante já foi relatado por Kelly & Moser (1983), que observaram que o AIB aumentou o número e o de peso seco de novas raízes por planta de *Lideoderon tulipera* L após o transplante. Piveta (1999) observou que o uso de AIB nas concentrações mais elevadas proporcionou maior número de raízes por mudas de noqueira-macadâmia (*Macadamia integrifolia* Maiden e Betche).



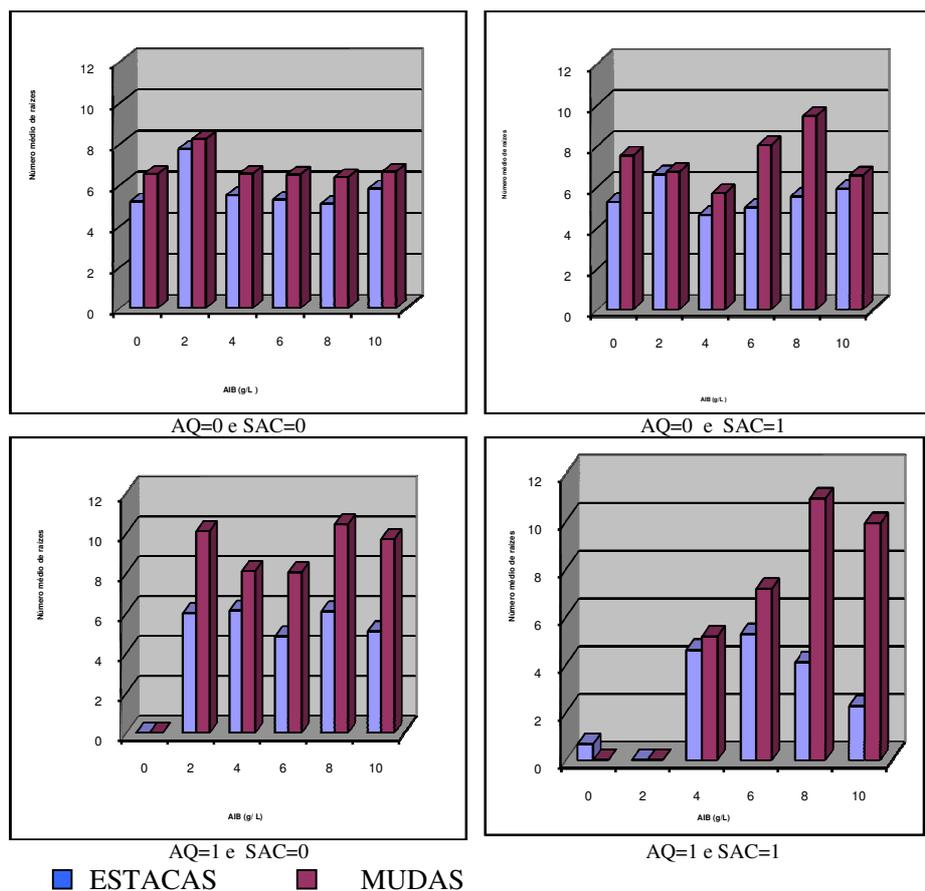
**FIGURA 14** Aspectos das raízes de estacas de *Coffea arabica* submetidas a aquecimento basal. UFLA, Lavras, MG, 2003.



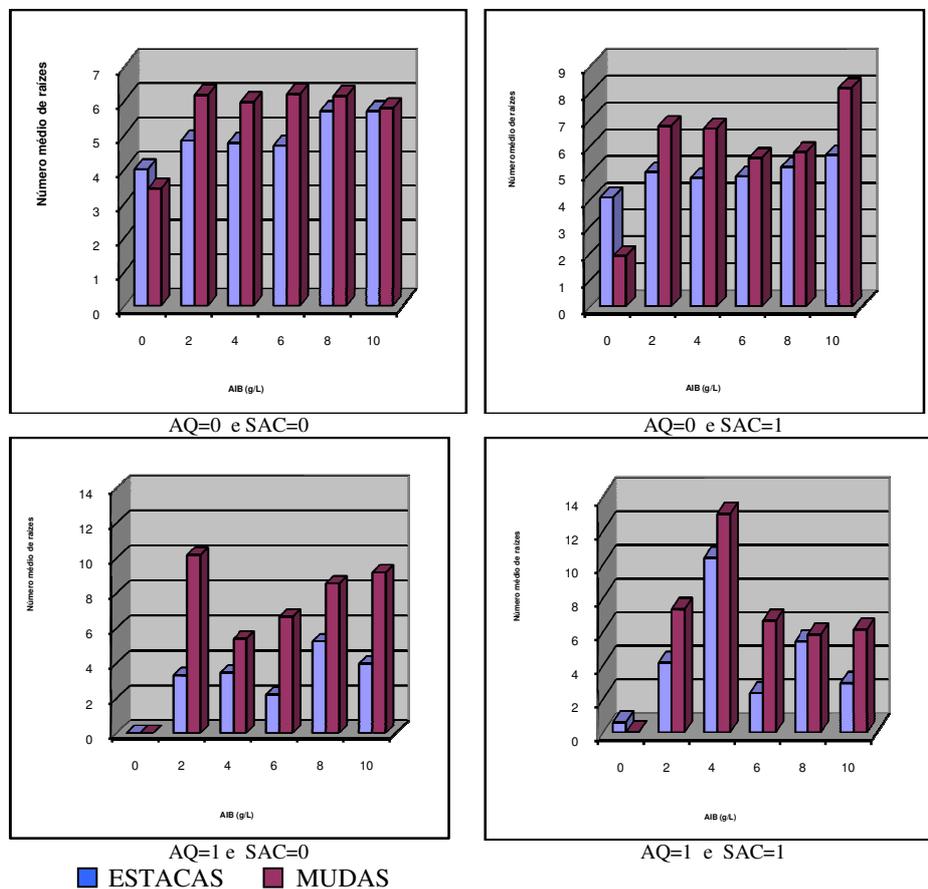
**FIGURA 15** Aspectos das raízes de estacas de *Coffea arabica* não submetidas a aquecimento basal. UFLA, Lavras, MG, 2003.

A elongação das raízes existentes e a iniciação e crescimento de novas raízes em um determinado intervalo de tempo são chamados de potencial de regeneração de raízes (PRR) (Reitvied & Williams, 1978, citados por Perkins & Kling, 1987; Larsen et al., 1986). O PRR varia com a espécie, estado fisiológico, meio ambiente, manipulação e o tipo de sistema radicular (Larson, 1980). Vários pesquisadores têm encontrado correlações positivas entre o PRR e sobrevivência das mudas pós transplântio.

Pode-se observar que o aquecimento promoveu um maior aumento do número de raízes, mesmo após o transplântio (Whalley & Loach, 1981).



**FIGURA 16** Número médio de raízes das estacas aos 90 dias e número médio de raízes das mudas formadas para a cultivar Acaiá. UFLA, Lavras, MG, 2003.



**FIGURA 17** Número médio de raízes das estacas aos 90 dias e número médio de raízes das mudas formadas para a cultivar Rubi. UFLA, Lavras, MG, 2003.

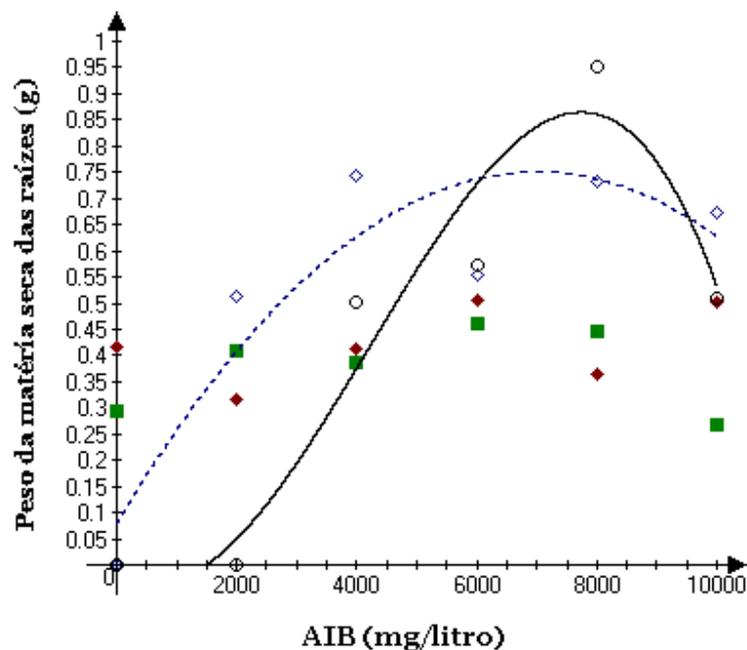
### 6.2.3 Peso da matéria seca das raízes

Conforme a análise de variância do peso da matéria seca das raízes, pode-se verificar que, para a cultivar Acaiá, somente o fator principal sacarose não foi significativo. Para a cultivar Rubi, pode-se observar efeito significativo para o fator principal AIB e sua interação com o fator principal aquecimento basal (Tabela 7A).

### **‘Acaiá’**

Os tratamentos (Aq=1 e Sac=1) e (Aq=1 e Sac=0) apresentam os maiores pesos de matéria seca de raízes. Para as duas situações, foi observado efeito quadrático significativo com maior peso da matéria seca das raízes (0,86 gramas) com  $7.743 \text{ mg.L}^{-1}$  de AIB e de 0,75 gramas com  $6.997 \text{ mg.L}^{-1}$  de AIB, respectivamente (Figura 18). Concentrações maiores e menores que essas tenderam a diminuir o peso da matéria seca das raízes.

Pôde-se notar um acréscimo no peso seco das raízes das estacas dos tratamentos Aq=1 e Sac=1, uma vez que na concentrações de  $6.997 \text{ mg.L}^{-1}$  essas têm peso da matéria seca de raízes de 0,837g, que é 11,6% maior que dos tratamentos Aq=1 e Sac=0. Não observou-se o efeito significativo para os tratamentos (Aq=0 e Sac=0) e (Aq=0 e Sac=1). Os pesos da matéria seca das raízes nestes casos foram, em média, de 0,42 gramas e 0,38 gramas, respectivamente. Verifica-se que o aquecimento basal dobrou o peso da matéria seca nos tratamentos, com ou sem fornecimento exógeno de sacarose.

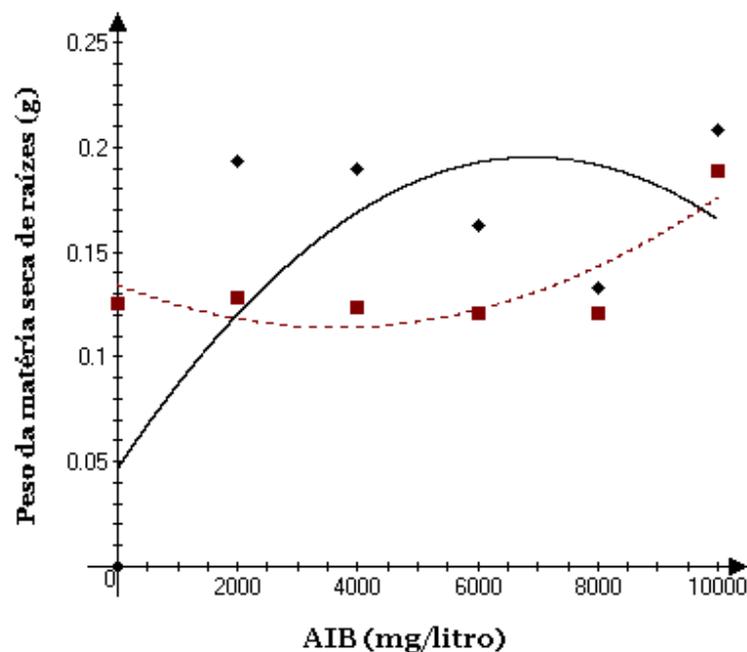


- (Aq=0 e Sac=0) : Y médio = 0,38 gramas
- ◆ (Aq=0 e Sac=1) : Y médio = 0,42 gramas
- ◇ (Aq=1 e Sac=0) :  $Y = 0,079606 + 0,000192 X - 1,371265 \times 10^{-8} X^2$   $R^2 = 0,828$
- (Aq=1 e Sac=1) :  $Y = -0,007189 - 0,000079 X + 6,413599 \times 10^{-8} X^2 - 5,080287 \times 10^{-12} X^3$   $R^2 = 0,923$

FIGURA 18 Peso da matéria seca das raízes de mudas de cafeeiro ‘Acaiá’ em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.

### ‘Rubi’

Observou-se efeito quadrático significativo para os tratamentos em que as estacas tiveram indução por aquecimento basal (Aq=1), indicando que o peso da matéria seca das raízes tende a aumentar com o aumento da concentração de AIB, atingindo um máximo em 6.908 mg.L<sup>-1</sup>, com 0,195 (0,567 gramas) (Figura 19).



- Sem aquecimento basal :  $Y = 0,134305 - 0,000011 X - 1,532455 \times 10^{-9} X^2$   $R^2 = 0,740$
- ◆ Com aquecimento basal :  $Y = 0,047038 + 0,000043 X - 3,104969 \times 10^{-9} X^2$   $R^2 = 0,525$

**FIGURA 19** Peso da matéria seca das raízes de cafeeiro ‘Rubi’ em função das concentrações de AIB e do aquecimento basal na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Para os tratamentos em que as estacas não tiveram indução por aquecimento basal, observou-se também um efeito quadrático. Na ausência de AIB ocorreu a obtenção de 0,134 (0,361 gramas) de peso da matéria seca. Observou-se uma tendência desse peso se manter constante até a concentração de AIB de 8.000 mg.L<sup>-1</sup> com aumento desse para 0,176 (0,50)g na concentração máxima estudada de 10.000 mg.L<sup>-1</sup>.

Resultado semelhante foi relatado por Pio (2002), que obteve maiores pesos de matéria seca das raízes na ausência e na concentração máxima de AIB.

A explicação para esse comportamento, segundo o autor, pode estar relacionada com o balanço interno entre auxinas exógenas, auxinas internas e co-fatores de enraizamento. Existem ainda outros fatores que podem estar relacionados, como, por exemplo, a influência de nutrientes, macros e micros, que afetam o desenvolvimento da planta.

Para as estacas que não tiveram aquecimento basal ( $Aq=0$ ), o AIB não influenciou o peso da matéria seca das raízes, mas para as que receberam o aquecimento ( $Aq=1$ ) o efeito foi positivo. Pode-se observar que o aquecimento basal aumentou o peso da matéria seca do sistema radicular em torno de 31,3%. Resultados semelhantes nos quais o peso seco do sistema radicular e das raízes individuais de porta enxertos de macieira aumentaram com o aumento da temperatura do leito de enraizamento, foram relatados por Howard (1968), Nelson & Tukey (1956) e Fujii & Nakano (1974). O aquecimento proporcionou a formação de um sistema radicular bem ramificado com maior número e comprimento de raízes finas não suberizadas e responsáveis pela absorção de nutrientes (Himmelbauer et al. 2002) o que levou ao maior desenvolvimento da parte aérea.

Bergo (1997) afirma que o uso do AIB não mostrou diferenças significativas para a cultivar Catuaí. Já para a 'Acaíá', o uso do regulador aumentou em 65% o peso da matéria seca do sistema radicular. Resultados semelhantes foram encontrados por Faria e Sacramento (2003) e Dutra et. al. (2002).

Rezende (1996) e Pereira (2000) relatam que o AIB teve efeito negativo para o peso da matéria seca do sistema radicular de *Coffea arabica* spp., o que não foi confirmado no presente estudo.

Pio (2002) observou que, para estacas tratadas com AIB após o transplântio (180 dias), a presença de sacarose não interferiu na biomassa seca das raízes das plantas de figueira.

#### 6.2.4 Peso da matéria seca da parte aérea

O resumo da análise de variância para a característica peso da matéria seca da parte aérea é mostrado na Tabela 8A. Nota-se que, para a cultivar Acaiá, os fatores principais, bem como as interações aquecimento basal x sacarose e aquecimento basal x AIB foram significativos. Para a cultivar Rubi, houve efeito significativo para os fatores principais aquecimento basal e AIB, bem como para a respectiva interação.

##### ‘Acaiá’

Os tratamentos com e sem fornecimento exógeno de sacarose diferiram estatisticamente na ausência do aquecimento basal. Os tratamentos em que as estacas não tiveram indução por aquecimento basal (Aq=0) tiveram um peso médio de matéria seca da parte aérea estatisticamente maior que aqueles em que as estacas tiveram indução por aquecimento basal (Aq=1) (Tabela 3), independente do fornecimento ou não da sacarose exógena.

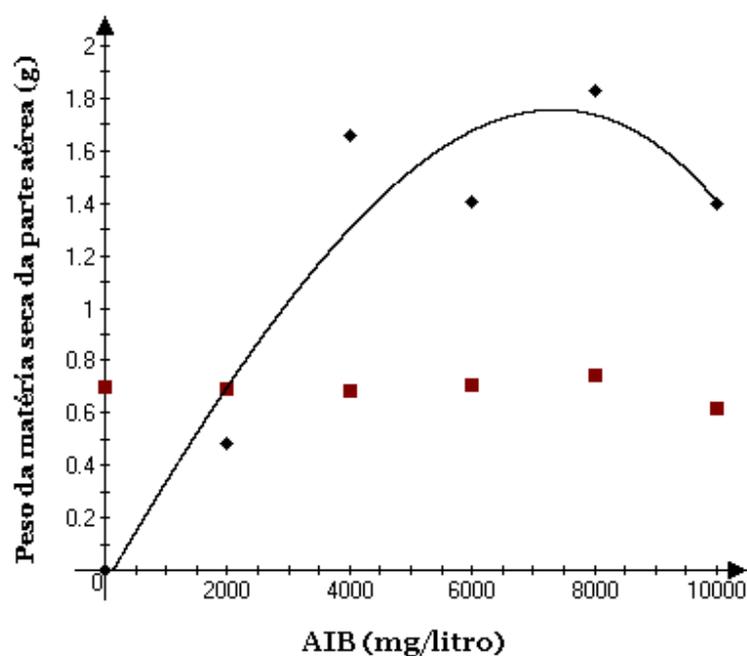
TABELA 3 Peso da matéria seca da parte aérea de mudas de cafeeiro ‘Acaiá’ em função do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose na fase de enraizamento de estacas. UFLA, Lavras, MG, 2003.

	Peso da matéria seca da parte aérea (g)	
	Sem sacarose (Sac=0)	Com sacarose (Sac=1)
Sem aquecimento (Aq=0)	1,3101 aA	0,9462 bA
Com aquecimento (Aq=1)	0,6638 aB	0,7178 a B

Médias seguidas da mesma letra minúscula na horizontal e maiúscula na vertical não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade.

Os tratamentos sem aquecimento basal (Aq=0) não mostraram efeito significativo para as concentrações de AIB estudadas, tendo apresentado, em média, 0,70 gramas de peso da matéria seca da parte aérea. Para os tratamentos

em que as estacas tiveram indução por aquecimento basal (Aq=1), o maior peso da matéria seca da parte aérea, 1,76 gramas, foi obtido na concentração de 7.362 mg.L<sup>-1</sup> (Figura 20).



■ Sem aquecimento basal :

◆ Com aquecimento basal :  $Y = -0,052252 + 0,000399 X - 8,360908 \times 10^{-9} X^2 - 1,699035 \times 10^{-12} X^3$   $R^2 = 0,90$

FIGURA 20 - Peso da matéria seca da parte aérea de mudas de cafeeiro ‘Acaiaí’ em função das concentrações de AIB e do aquecimento basal. UFLA, Lavras, MG, 2003.

### ‘Rubi’

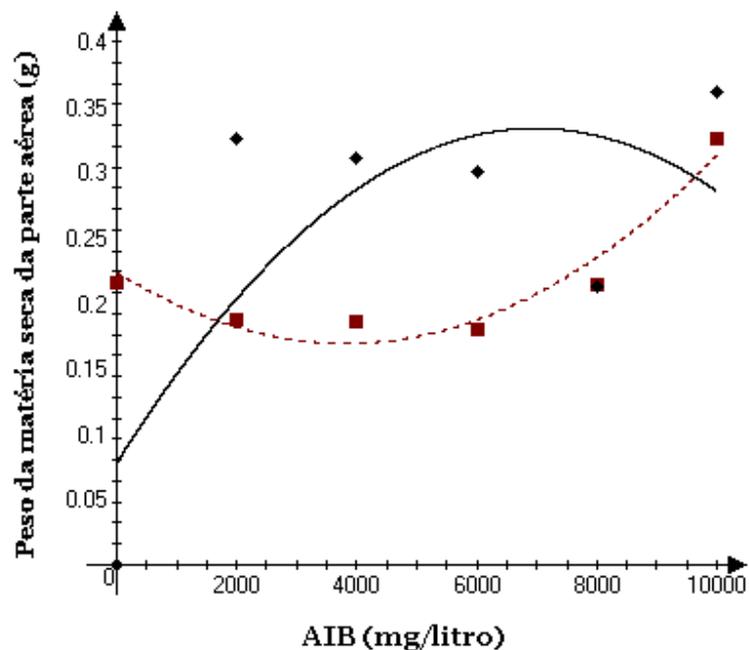
Para os tratamentos com indução por aquecimento basal (Aq=1), verificou-se efeito quadrático para as concentrações de AIB. A concentração que

apresentou maior peso da matéria seca da parte aérea foi de 6.973 mg.L<sup>-1</sup> com 0,33 (1,15 gramas).

Nos tratamentos sem indução por aquecimento basal (Aq=0), verificou-se o mesmo comportamento descrito para a característica peso da matéria seca de raiz. Na ausência de AIB, ocorreu a obtenção de 0,224 (0,67 gramas) e observou-se uma tendência desse peso se manter constante até a concentração de 8.000 mg.L<sup>-1</sup>, com aumento dessa até o máximo de 0,3126 (1,054 gramas), na concentração de 10.000 mg.L<sup>-1</sup>, proporcionando um ganho de 57,3% (Figura 21).

Para as estacas da cultivar Rubi que não receberam aquecimento basal, o comportamento da curva de ajuste do peso seco da parte aérea e do peso de matéria seca das raízes foi o mesmo. Resultados semelhantes foram observados por Pio (2002) em estacas de figueira enraizadas aos 60 dias e por Faria & Sacramento (2003), em estacas de diferentes clones de cacaueteiro.

Para a cultivar Acaiá, os resultados obtidos para as estacas que não receberam aquecimento basal são semelhantes aos apresentados por Pereira (2000), nos quais as estacas de *Coffea arabica* tratadas com ANA (1.000 mg.L<sup>-1</sup>) apresentaram maior peso da matéria seca das brotações, porém, os valores foram bem próximos aos observados nas estacas que não foram submetidas ao tratamento auxínico. Para o regulador AIB, o autor não observou efeito nas diferentes concentrações aplicadas por meio de imersão rápida (5 segundos). Contudo, esses resultados são diferentes daqueles obtidos por Bergo (1997), que observou uma redução de 28% no peso da matéria seca das brotações de estacas de 'Catuaí' tratadas com AIB.



- Sem aquecimento basal :  $Y = +0,223659 - 0,000029 X + 3,744236 \times 10^{-9} X^2$   $R^2 = 0,928$
- ◆ Com aquecimento basal :  $Y = +0,077873 + 0,000073 X - 5,257259 \times 10^{-9} X^2$   $R^2 = 0,529$

FIGURA 21 Peso da matéria seca da parte aérea de mudas de cafeeiro ‘Rubi’ em função da concentração de AIB e do aquecimento basal. UFLA, Lavras, MG, 2003.

A sacarose não exerceu qualquer efeito na qualidade da parte aérea formada. Esse fato também foi observado por Alves et al. (1991) e Ferreira & Martins (1996) em estacas de acerola e por Coelho et al. (2000) em estacas de goiabeira ‘Paluma’.

O aspecto das mudas formadas de ‘Acaia’ e ‘Rubi’, em função do aquecimento basal na concentração de AIB de melhor resposta para cada cultivar, pode ser observado nas Figuras 22 e 23.



**Figura 22** Mudanças formadas de cafeeiro 'Acaiaí' em função do aquecimento basal na concentração de AIB de melhor resposta para a variável peso da matéria seca da parte aérea. UFLA, Lavras, MG, 2003.



**Figura 23** Mudanças formadas de cafeeiro 'Rubi' em função do aquecimento basal na concentração de AIB de melhor resposta para a variável peso da matéria seca da parte aérea. UFLA, Lavras, MG, 2003.

### **6.2.5 Relação peso da matéria seca do sistema radicular e peso da matéria seca da parte aérea (PMSR/PMSPA)**

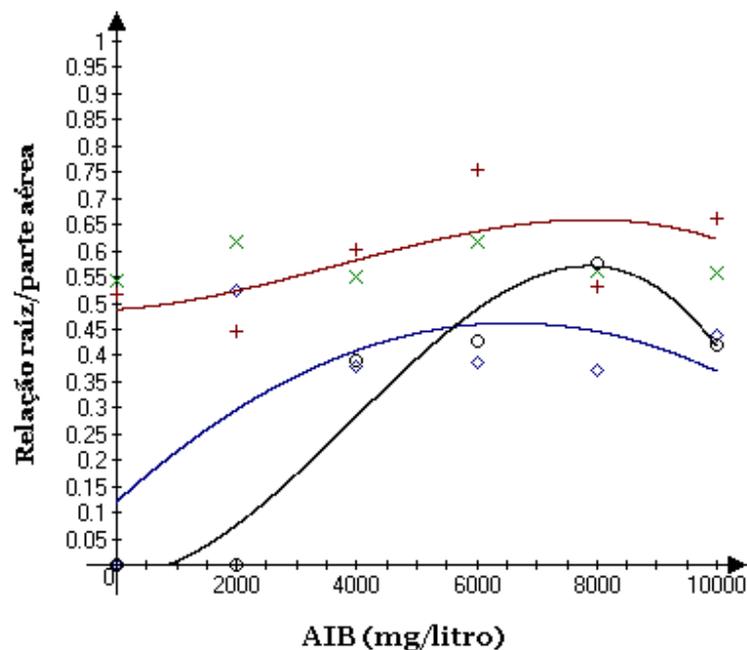
Os resultados obtidos pela análise de variância para a característica PMSR/PMSPA são apresentados na Tabela 9A. Pode-se verificar que tanto para ‘Acaiá’ como para ‘Rubi’ foram significativos os fatores principais aquecimento basal e concentrações de AIB, bem como esta interação. Para a cultivar ‘Acaiá’, ainda tiveram efeito significativo as interações sacarose x AIB e aquecimento basal x sacarose x AIB.

#### **‘Acaiá’**

No desdobramento da interação aquecimento basal x sacarose x AIB apenas não foi observado efeito significativo para os tratamentos  $Aq=0$  e  $Sac=0$ , com média PMSR/PMSPA de 0,574. Para as demais situações observou-se efeito quadrático, aumentando-se o valor da relação PMSR/PMSPA até uma concentração de máxima resposta e a partir dessa concentração uma diminuição desse valor (Figura 24).

A maior relação PMSR/PMSPA obtida foi de 0,659, na concentração de 7.908  $\text{mg.L}^{-1}$  de AIB para tratamentos  $Aq=0$  e  $Sac=1$ . Nesses tratamentos, a resposta às concentrações de AIB foram pouco acentuadas, já que na ausência do AIB esse valor foi de 0,49.

Para os tratamentos  $Aq=1$  e  $Sac=1$  e para os tratamentos  $Aq=1$  e  $Sac=0$ , a resposta às concentrações de AIB foram bem acentuadas, partindo de 0 e de 0,121 e aumentando até os valores máximos de 0,571 (7.856  $\text{mg.L}^{-1}$ ) e de 0,462 (6.575  $\text{mg.L}^{-1}$ ), respectivamente.



× (Aq=0 e Sac=0) :

+ (Aq=0 e Sac=1) :  $Y = 0,488046 + 0,000007 X + 6,3869 \times 10^{-9} X^2 - 5,770081 \times 10^{-13} X^3$   $R^2 = 0,365$

◇ (Aq=1 e Sac=0) :  $Y = 0,120746 + 0,000104 X - 7,890929 \times 10^{-9} X^2$   $R^2 = 0,492$

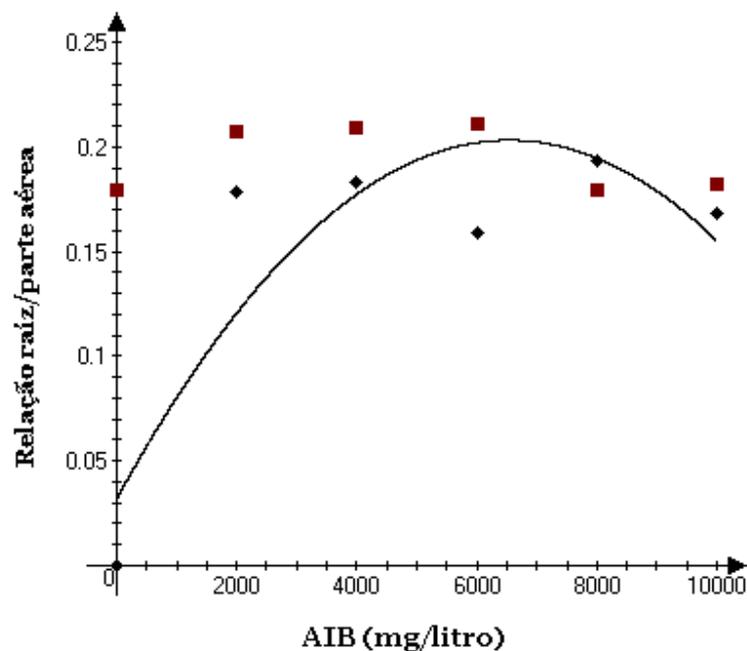
○ (Aq=1 e Sac=1) :  $Y = -0,020011 + 0,000001 X + 2,84076 \times 10^{-8} X^2 - 2,416126 \times 10^{-12} X^3$   $R^2 = 0,928$

FIGURA 24 Relação PMSR/PMSPA de mudas de cafeeiro ‘Acaia’ em função das concentrações de AIB, do aquecimento basal e do fornecimento exógeno de sacarose. UFLA, Lavras , MG, 2003.

### ‘Rubi’

Os tratamentos sem indução por aquecimento basal não mostraram efeito significativo para as concentrações de AIB, apresentando, em média, um valor de PMSR/PMSPA de 0,195 (0,57). Para os tratamentos em que as estacas foram submetidas ao aquecimento basal, verificou-se que a regressão que

melhor ajustou-se aos dados foi a quadrática, obtendo-se o maior valor de 0,203 (0,6) PMSR/PMSPA na concentração de 6.538 mg.L<sup>-1</sup> de AIB (Figura 25).



■ Sem aquecimento basal :  
 ◆ Com aquecimento basal :  $Y = +0,031934 + 0,000052 X - 4,005964 \times 10^{-9} X^2$   $R^2 = 0,759$

FIGURA 25 Relação PMSR/PMSPA de mudas de cafeeiro 'Rubi' em função das concentrações de AIB, e do aquecimento basal. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Levando-se em consideração os valores dos tratamentos sem aquecimento, pode-se dizer que esse fator não alterou a relação PMSR/PMSPA.

Os valores da relação PMSR/PMSPA observados foram maiores que os relatados por Ramos & Carvalho (1997), para mudas obtidas a partir de sementeira de 'Bourbon Amarelo' 0,3843; 'Mundo Novo' 0,3493; 'Catuaí' 0,3408.

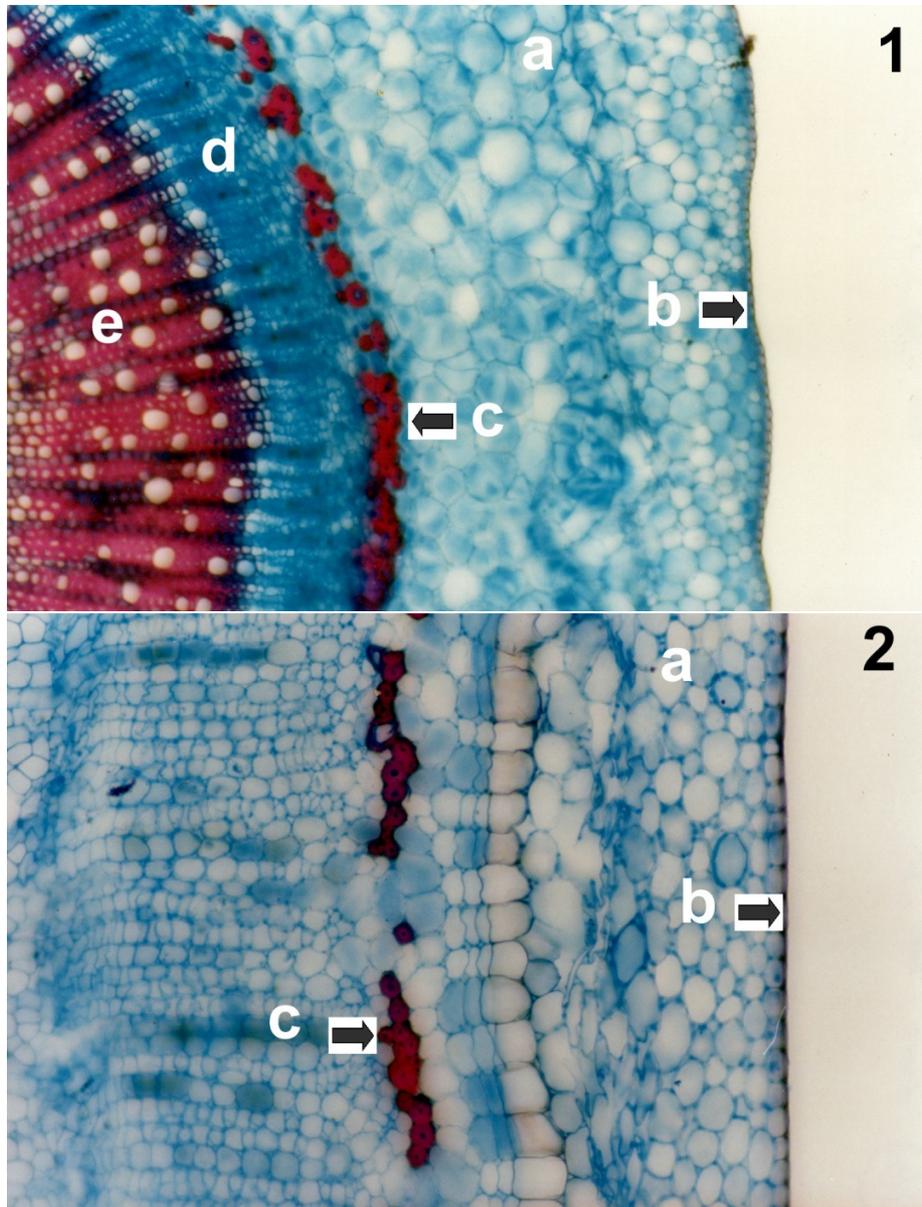
A relação raiz/parte aérea traz uma avaliação da eficiência do dois órgãos na competição por recursos. Segundo Aung (1974), esta relação pode mudar com a idade da planta, com seu estágio de desenvolvimento e com fatores ambientais. Em geral, quando o suprimento de minerais é suficiente, a proporção de fotossintatos dirigida para o crescimento e metabolismo de raízes pode chegar a 30% em plantas anuais, podendo ser maior em plantas perenes (Marschner, 1986).

### **6.3 ANÁLISES ANATÔMICAS**

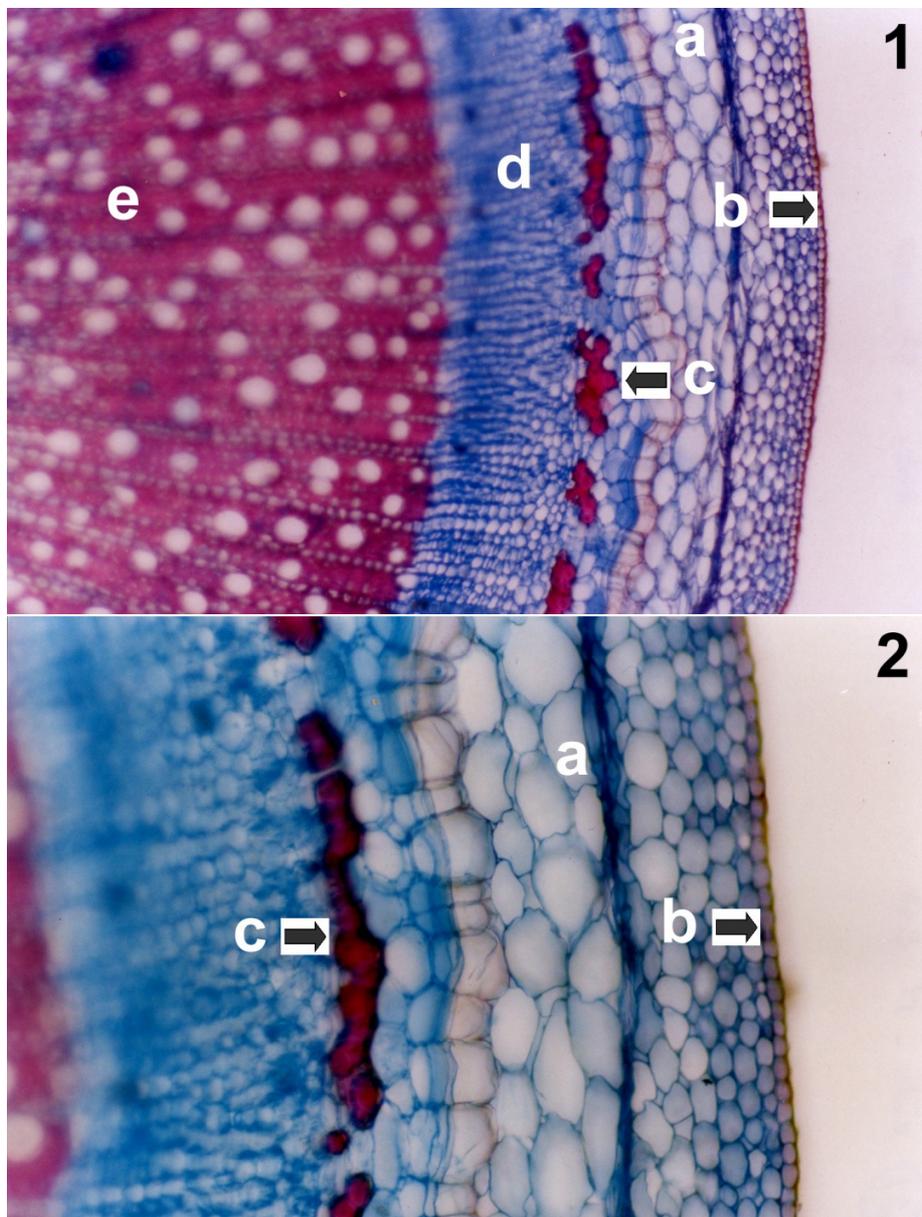
#### **6.3.1 Análises anatômicas das estacas caulinares para a observação de barreiras ao enraizamento**

As estruturas anatômicas observadas nas bases das estacas de cafeeiros das cultivares Acaia e Rubi foram as mesmas do segundo ao quinto nó. São estruturas primárias típicas constituídas de três sistemas de tecidos: o dérmico, o fundamental e o fascicular ou vascular. As estacas apresentaram células de tecido esclerenquimático ocorrendo em faixas não contínuas ao redor dos tecidos vasculares, fornecendo sustentação e proteção e não atuando como barreira anatômica à emergência do primórdio radicular (Figura 26 e 27). Esse fato foi confirmado pela observação nos experimentos de enraizamento em que as estacas emitiram raízes, independentemente do nó.

A bainha de esclerênquima perivascular, quando se apresenta contínua, oferece um obstáculo ao crescimento das raízes, desviando-as de seu curso normalmente radial (Stangler, 1956 e Lopes, 1995).



**FIGURA 26** Seções transversais da base de estacas caulinares de *Coffea arabica* cultivar Acaiá em objetiva de 10X (1) e em objetiva de 20X (2). (a) = cortéx; (b) = epiderme; (c) = anel esclerenquimático perivascular; (d) = floema; (e) = xilema. UFLA, Lavras, MG, 2003.

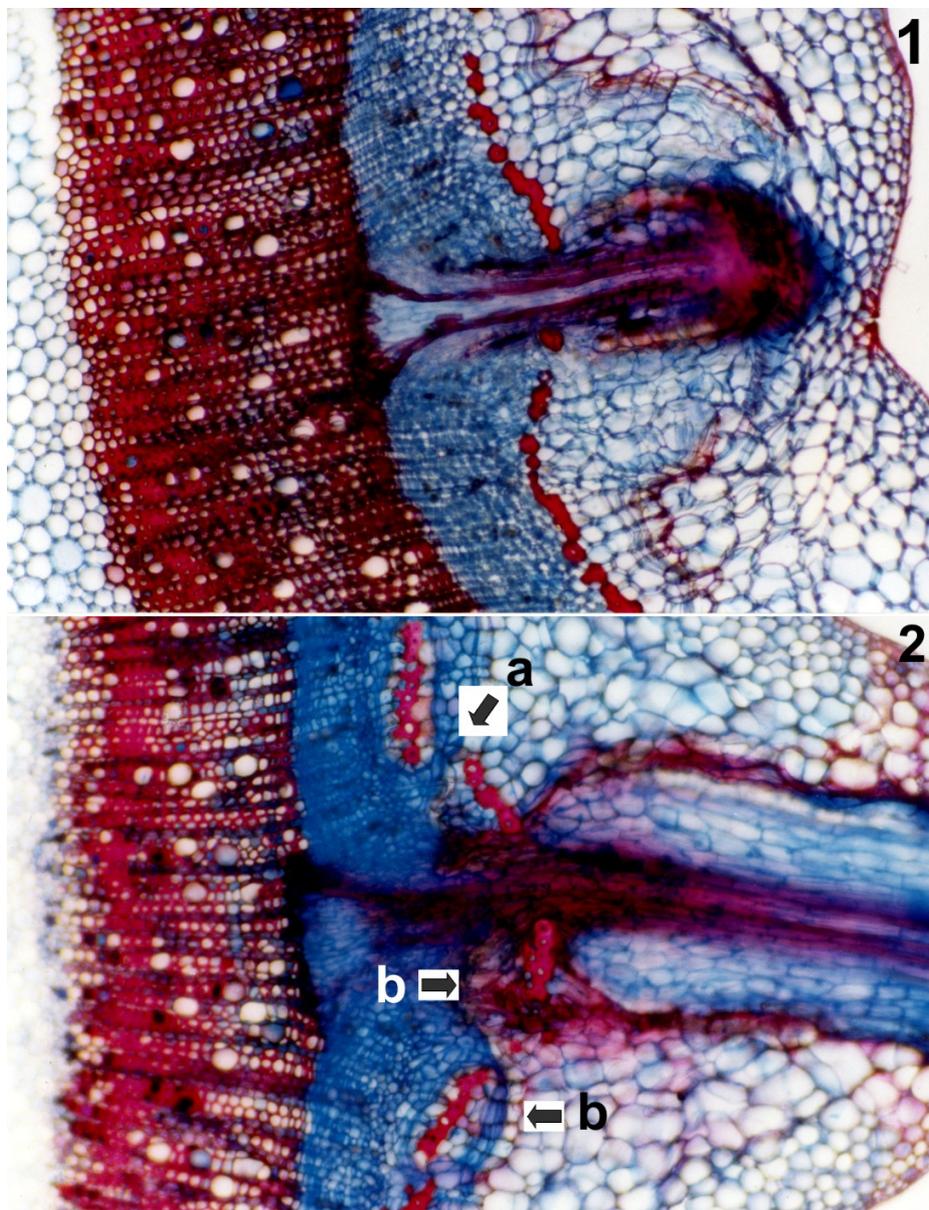


**FIGURA 27** Seções transversais da base de estacas caulinares de *Coffea arabica* cultivar Rubi em objetiva de 10X (1) e em objetiva de 20X (2). (a) = cortéx; (b) = epiderme; (c) = anel esclerenquimático perivascular; (d) = floema; (e) = xilema. UFLA, Lavras, MG, 2003.

### **6.3.2 Análises anatômicas das estacas caulinares para a observação do local de origem do primórdio radicular**

A origem das raízes foi a mesma para qualquer um dos tratamentos aplicados nos experimentos de enraizamento. Os cortes da região de enraizamento mostraram que as raízes adventícias tiveram origem nas células próximas ao câmbio vascular, para as duas cultivares (Figura 28). Resultados similares foram obtidos por Lopes (1995) em estacas de mangueira em que as raízes adventícias sempre surgiam nas proximidades do câmbio vascular. Em videira, Pacheco et al. (1998) verificaram que as raízes adventícias tiveram origem endógena e sua formação ocorreu nas proximidades da região cambial e não no tecido caloso. A mesma origem das raízes adventícias foi relatada por outros autores (Stangler, 1956; Esau, 1974; Albarazi e Schwabe, 1982; Pratt, 1974; Hartmann et al., 1997; Satoo, 1955; Lebrun, Toussaint e Roggermans, 1998).

Quando uma raiz adventícia se inicia de células do câmbio vascular do caule, que mantém características meristemáticas, divide-se em sentido periclinal. Os produtos destas divisões dividem-se novamente em sentido periclinal e anticlinal. As células que se acumulam formam uma protusão, o primórdio da raiz. À medida que o primórdio aumenta em comprimento, penetra no córtex, passando pelos espaços entre as fibras do anel esclerenquimático e emerge na superfície. Antes da raiz adventícia emergir, ela diferencia um protomeristema, uma coifa, o início do cilindro vascular e o córtex. Quando os elementos do floema e do xilema se diferenciam na raiz adventícia, eles se conectam aos elementos equivalentes no caule (estacas). A conexão forma-se à custa da diferenciação em elementos vasculares de células de parênquimas localizados na região proximal do primórdio (Esau, 1974).



**FIGURA 28** Seções transversais da base de estacas caulinares de *Coffea sp.* Em (1) desenvolvimento do primórdio radicular. Em (2) (a) = espaço entre as fibras do anel esclerenquimático; (b)= detalhe da região de origem do primórdio radicular próximo à região cambial. UFLA, Lavras, MG, 2003.

### 6.3.3 Análise anatômica para comparação entre as raízes adventícias caulinares e raízes de mudas obtidas por semente

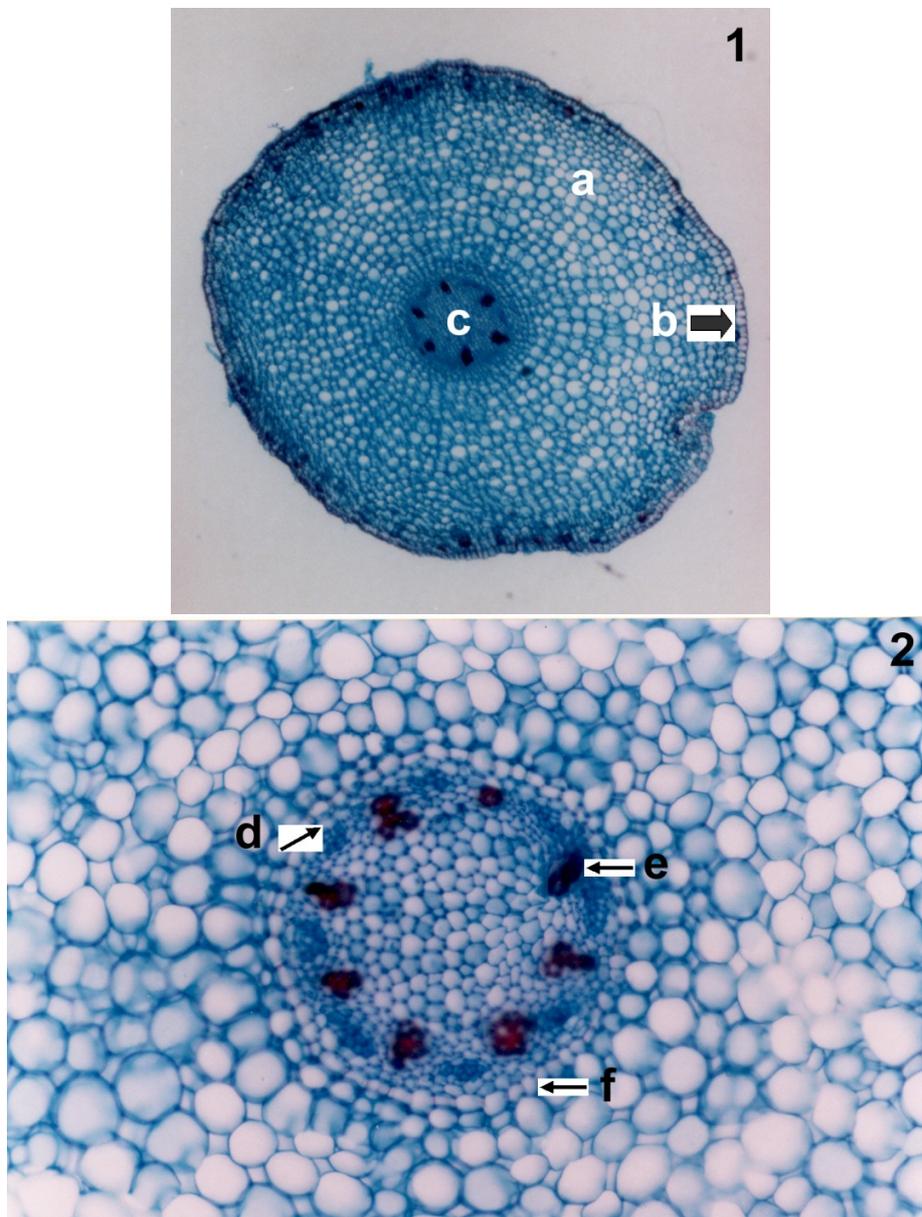
As estruturas observadas nas raízes adventícias foram estruturas primárias típicas de raízes de *Coffea arabica* (Figura 29). Os resultados obtidos pela análise de variância do número observado de feixes vasculares, da espessura do cilindro vascular, da espessura do córtex e espessura da epiderme são mostrados na Tabela 10A. Pode observar-se que apenas as raízes da cultivar Rubi, provenientes de estaquia, apresentaram diferenças para o número de feixes e espessura do cilindro vascular (Tabela 4).

**TABELA 4** Número de feixes vasculares, espessura do cilindro vascular, espessura do córtex e espessura da epiderme em micrômetro ( $\mu\text{m}$ ) de raízes de mudas de cafeeiro 'Acaiá' e 'Rubi' obtidas por estaquia caulinar e por semeadura. UFLA, Lavras, MG, 2003.

	Número de feixes vasculares	Espessura do cilindro vascular	Espessura do córtex	Espessura da epiderme
Acaiá semente	6,3333 B	248,7417 B	373,4262 A	28,1042 A
Acaiá estaca	6,3333 B	230,3750 B	396,6250 A	24,9375 A
Rubi semente	5,8333 B	231,1667 B	450,3000 A	26,5208 A
Rubi estaca	7,5000 A	334,5583 A	389,8958 A	25,0167 A

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade.

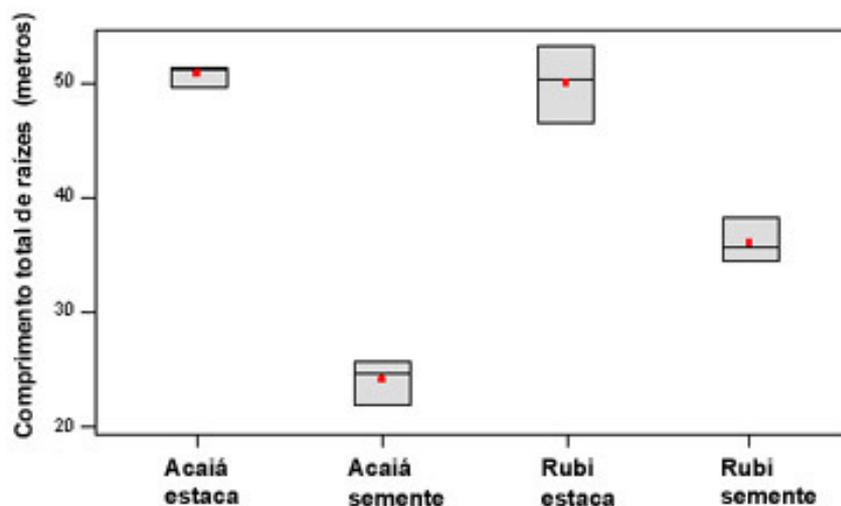
Dedecca (1957), em seus estudos com a variedade Typica, observou que é variável o número de feixes de xilema e floema primários nas raízes dos diferentes indivíduos ou nas raízes de um mesmo indivíduo. Foram freqüentes as raízes com 6, 7, 8, 9 e 11 feixes vasculares.



**FIGURA 29** Seções transversais de raízes de *Coffea arabica*. Em (1) (a) = cortéx; (b) = epiderme; (c) = cilindro vascular. Em (2) (d) = periciclo; (e) = vasos vasculares; (f) endoderme. UFLA, Lavras, MG, 2003.

#### 6.4 Estudo preliminar do sistema radicular de mudas obtidas por meio de estacas e de mudas obtidas de sementes

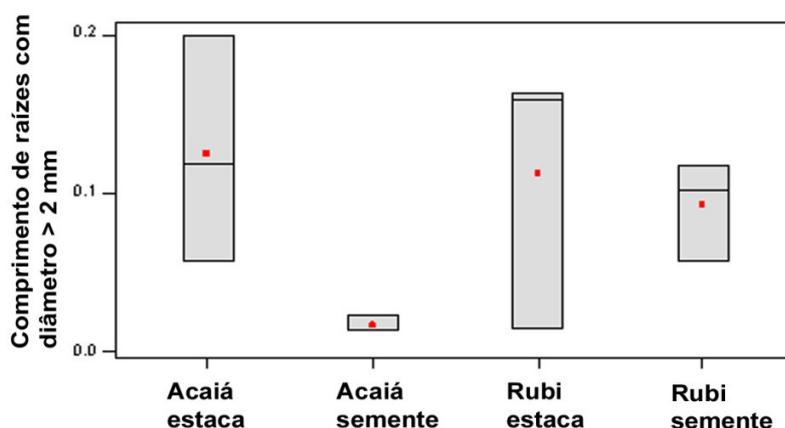
Dados observados de comprimento das raízes em metros neste estudo são apresentadas na Tabela 11A. A maior parte do sistema radicular de todas as mudas (acima de 98%) constituiu-se de raízes finas com diâmetro menor que 2 mm, que constituíram os maiores comprimentos (Figura 30).



**FIGURA 30** Comprimentos de raízes com diâmetros menores que 2 mm, em metros, de mudas de cafeeiro ‘Acaiá’ e ‘Rubi’ obtidas por meio de enraizamento de estacas e por semeadura. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Assim, menos de 2% das raízes teve diâmetros maiores do que 2 mm. Resultados semelhantes foram encontrados por Finer et al. (1997) em coníferas, em que mais de 90% do comprimento total das raízes foram finas (<1,0 mm). Raízes finas de plantas adultas de macieira apresentam diâmetros inferiores a 1,0 mm (De Silva et al., 1999). Para o comprimento das raízes maiores que 2 mm,

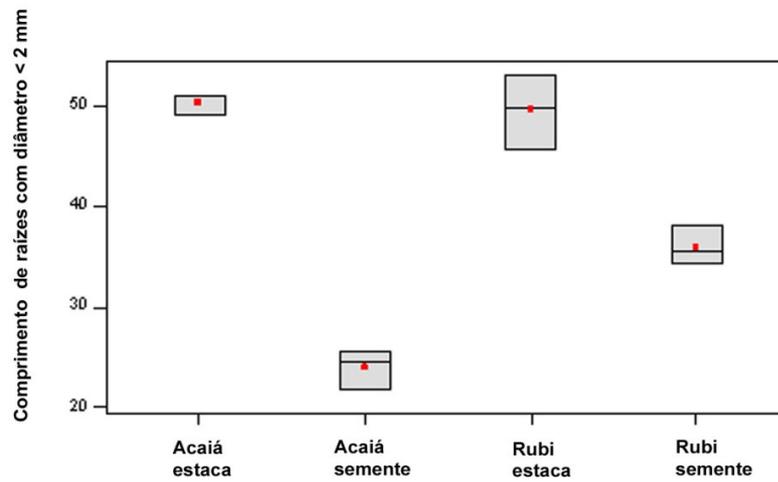
apenas as mudas de ‘Acaiá’ obtidas por sementeira (‘Acaiá semente’) apresentaram menor comprimento e diferiram das outras mudas (Figura 31).



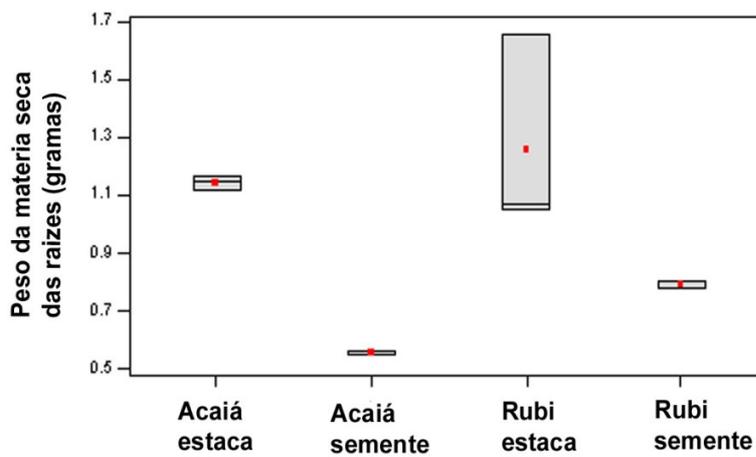
**FIGURA 31** Comprimento de raízes com diâmetros maiores que 2 mm, em metros, de mudas de cafeeiro ‘Acaiá’ e ‘Rubi’ obtidas por meio de enraizamento de estacas e por sementeira. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Para as características comprimento total das raízes e comprimento de raízes com diâmetro entre 0 e 2 mm, as mudas provenientes de estacas tiveram maiores comprimentos do que as mudas obtidas por sementeira para as duas cultivares (Figura 32). Isto pode estar relacionado ao fato de que as mudas obtidas por sementes apresentarem apenas uma raiz pivotante, enquanto que as obtidas por meio de estaquia apresentaram de 5 a 7 raízes principais. Pode-se observar também que o sistema radicular da ‘Rubi’ obtida por sementeira apresentou-se mais vigoroso que o da ‘Acaiá’, também obtido por sementeira.

A característica peso da matéria seca do sistema radicular mostrou o mesmo comportamento do comprimento total de raízes (Figura 33).



**FIGURA 32** Comprimentos totais das raízes de mudas de cafeeiro ‘Acaiá’ e ‘Rubi’ obtidos por meio de enraizamento de estacas e por sementeira. UFLA, Lavras, MG, 2003.



**FIGURA 33** Pesos da matéria seca das raízes de mudas de cafeeiro ‘Acaiá’ e ‘Rubi’, obtidos por meio de enraizamento de estacas e por sementeira. UFLA, Lavras, MG, 2003.

As raízes finas são a parte jovem e os mais importantes componentes do sistema radicular, por meio das quais as plantas absorvem água e nutrientes. Essas raízes finas não são suberizadas e têm alta permeabilidade comparadas com as mais velhas (De Silva et al., 1999).

Para cafeeiros adultos, Rena & Guimarães (2000) definem como raízes finas ou absorventes as raízes com diâmetro menor que 3 mm. Essas raízes estão muito associadas com os processos de absorção, biossínteses diversas e transporte de substâncias.

Não foi encontrada na literatura consultada nenhuma referência sobre comprimento total de raízes de mudas de cafeeiro. Bull, 1963, citado por Rena & Guimarães (2000), concluiu, estudando o sistema radicular de plantas clonadas por meio de estaquia caular, que a estrutura geral do sistema radicular dessas plantas após 20 anos de idade, não diferiu significativamente do modelo apresentado por Nutman 1933, citado por Rena & Guimarães (2000) para *Coffea arabica* obtidos por semeadura.

Fotos de mudas formadas nas concentrações de AIB que proporcionaram os melhores resultados neste estudo e as mudas formadas na ausência do regulador são apresentadas nas Figuras 34 a 37.



**FIGURA 34** Aspectos do sistema radicular de mudas de cafeeiro 'Acaiá' obtidas por meio de enraizamento de estacas caulinares. UFLA, Lavras , MG, 2003.



**FIGURA 35** Aspectos do sistema radicular de mudas de cafeeiro 'Acaiá' obtidas por meio de enraizamento de estacas caulinares. UFLA, Lavras, MG, 2003.



**FIGURA 36** Aspectos do sistema radicular de mudas de cafeeiro 'Rubi' obtidas por meio de enraizamento de estacas caulinares. UFLA, Lavras, MG, 2003.



**FIGURA 37** Aspectos do sistema radicular de mudas de cafeeiro 'Rubi' obtidas por meio de enraizamento de estacas caulinares. UFLA, Lavras, MG, 2003.

## 7 CONCLUSÕES

O aquecimento basal associado ao AIB não aumenta a porcentagem total de estacas enraizadas, mas aumenta o número de raízes, e o peso da matéria seca das raízes e da parte aérea das mudas das duas cultivares.

O uso da sacarose exógena não é eficaz para o enraizamento de estacas e nem para a formação de mudas.

A bainha de esclerênquima perivascular nas estacas estudadas é descontínua, não atuando como barreira anatômica a emergência do primórdio radicular.

As raízes adventícias em *Coffea arabica* cv Acaiá e Rubi têm origem nas células próximas ao câmbio vascular.

As estruturas primárias das raízes adventícias caulinares não diferem das raízes de mudas obtidas por mudas semente.

Mudas provenientes de estacas apresentam sistemas radiculares maiores que as mudas obtidas por semente.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBARAZI, Z.; SCHWABE. Rooting softwood cuttings of adult *Pistacia vera*. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 57, n. 2, p. 247-252, Apr. 1982.
- ALEGRE, J.; TOLEDO, J. L.; MARTÍNEZ, A.; MORA, O.; ANDRÉS, E. F. de. Rooting ability of *Dorycnium* spp. under different conditions. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 76, n. 1/2, p. 123-129, July 1998.
- ALVARENGA, L. R.; CARVALHO, V. D. Uso de substâncias promotoras de enraizamento de estacas frutíferas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 9, n. 101, p. 47-55, maio 1983.
- ALVES, R. E.; SILVA, A. Q. da; SILVA, H.; MUSSER, R. dos S. Contribuição ao estudo da aceroleira 1. Efeitos do IBA e da sacarose no enraizamento de estacas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 13, n. 2, p. 19-20, out. 1991.
- AMINAH, H.; DICK, J. McP.; LEAKEY, R. R. B.; GRACE, J.; SMITH, R. I. Effect of indole butyric acid (IBA) on stem cuttings of *Shorea leprosula*. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 72, n. 2/3, p. 199-206, Apr. 1995.
- ANDRADE, R. A.; MARTINS, A. B. G. Propagação vegetativa de porta enxertos para citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 134-136, abr. 2003.
- ANTUNES, L. E. C. **Influência de diferentes períodos de estratificação, concentrações de ácido indolbutírico e substratos no enraizamento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.)**. 1995. 53 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- ARCILA-PULGARIN, J.; VALENCIA-ARISTIZÁBAL, G. Enraizamento de estacas de café (*Coffea arabica* L.). **Cenicafé**, Caldas, v. 27, n. 3, p. 135-139, jul./sept. 1976.
- ARSENAULT J. L.; POULEUR, S.; MESSIER, C.; GUAY, R. WinRizho, a root measuring system with a unique overlap correction method. **HortScience**, Alexandria, v. 30, p. 906. 1995.

- ARTECA, R. N. **Plant growth substances: principles and applications**. New York: Chapman & Hall, 1996. 332 p.
- ASHIRU, G. A.; CARLSON, R. F. Some endogeneous rooting factors associated with rooting of East Malling II and Malling–Merton 106 apple clones. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Maryland, v. 92, p. 106-112, June 1968.
- AUNG, L. H. Root-shoot relationships. In: CARSON, E. W. **The plant root and its environment**. Charlottesville, 1974. Cap. 2, p. 29-61
- AVIDAN, B.; LAVEE, S. Physiological aspects of the rooting ability of olive cultivars. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 79, p. 93-101, 1978.
- BASTOS, D. C. **Efeito da época de coleta, estágio do ramo e do tratamento com IBA no enraizamento de estacas de caramboleira (*Averrhoa carambola* L.)**. 2002. 75 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, SP.
- BEAKBANE, V. R. Structure of the plant stem in relation to adventitious rooting. **Nature**, London, v. 192, n. 9, n. 4806, p. 954-955, Dec. 1961.
- BERGO, C. L. **Propagação vegetativa do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) através do enraizamento de estacas**. 1997. 62 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- BERHE, D.; NEGASH, L. Asexual propagation of *Juniperus procera* from Ethiopia: a contribution to the conservation of African pencil cedar. **Forest Ecology Management**, Amsterdam, v. 112, n. 1/2, p. 179-190, Dec. 1998.
- BERNTSON, G. M. A computer program for characterizing root system branching patterns **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 140, n. 1, p. 145-149, Feb. 1992.
- BHARDWAJ, D. R.; MISHRA, V. K. Propagation of sub-himalayan maple (*Acer oblongum*) through stem cuttings under mist chamber unit. **Journal of Tropical Forest Science**, Kuala Lumpur, v. 14, n. 4. p. 513-524, Oct. 2002.
- BIASE, L. A.; STOLTE, R. E.; SILVA, M. T. da. Estaquia de ramos semilenhosos de pessegueiro e nectarineira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 3, p. 421-425, dez. 2000.

BONDOK, A. S.; SALAMA, M. A.; MOUSTAFA, A. A. Studies on persimmon propagation by root cuttings. **Annals of Agricultural Science**, Cairo, v. 29, n. 2, p. 1045-1054, 1984.

BOSE, T. K.; MANDAL, D. P. Mist propagation of tropical plants. **Indian Horticulture**, New Delhi, v. 17, n. 1, p. 25-26, Mar. 1972

BOX, J. E.; RAMSEUR, R. D. Minirhizotron wheat root data: Comparisons to soil core root data. **Agronomy Journal**, Madison, v. 85, n. 5, p. 1058-1060, Sept./Oct. 1993.

BUSSAB, W. O.; MORETTIN, P. A. **Estatística básica**, São Paulo: Atual, 1987.

CALDWELL, M. M.; VIRGINIA, R. A. Root Systems. In: CHAPMAN, H. **Plant physiological ecology field methods and instrumentations**. St. Ives. Great Britain, 1989. p.

CAMERON, R. J.; THONSON, G. V. The vegetative propagation of *Pinus radiata*: root imitation in cuttings. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 130, n. 4, p. 242-251, 1969.

CARLEY, H. E.; WATSON, R. D. A new gravimetric method for estimating root-surface areas. **Soil Science**, Baltimore, v. 102, n. 5, p. 289-291, 1966.

CARLSON, R. F. Factors influencing root formation in hardwood cutting of fruit trees. **Quarterly Bulletin Michigan Agricultural Experimental Station**, East Lansing, v. 48, n. 3, p. 449-454, 1966.

CARPENTER, W. J.; CORNELL, J. A. Auxin application duration and concentration govern rooting of hibiscus stem cuttings. **Journal American Society Horticultural Science**, Alexandria, v. 117, n. 1, p. 68-74, Jan. 1992.

CASTRO, P. R. C. Estimulação do enraizamento de estacas de seringueira (*Hevea brasiliensis muell arg*) pela aplicação de reguladores vegetais. **Anais Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**, Piracicaba, v. 44, n. 2, p. 1025-1035, 1987.

CHALFUN, N. N. J.; DUARTE, G. de S.; PIVETTA, K. F. L.; KIAM, O. Y.; ABRAHÃO, E.; ALVARENGA, A. A.; Uso do ácido indolbutírico e da sacarose no enraizamento de estacas caulinares de porta-enxertos de videira 'RR 101-14'. **Ciência e Prática**, Lavras, v. 16, n. 3, p. 389-393, jul./set. 1992.

CHEFFINS, N. J.; HOWARD, B. H. Carbohydrate changes in leafless winter apple cuttings. I The influence of level and duration of bottom heat. **Journal of Horticultural Science**, London, v. 57, n. 1, p. 1-8, Jan. 1982a.

CHEFFINS, N. J.; HOWARD, B. H. Carbohydrate changes in leafless winter apple cuttings. II Effects of ambient air temperature during rootings. **Journal of Horticultural Science**, London, v. 57, n. 1, p. 9-15, Jan. 1982b.

CIAMPI, C.; GELLINI, R. The origin and development adventitious roots in *Olea europea*: the importance of anatomical structure in rootlet development. **Notiziario Giornale Botanico Italiano**, Firenze, v. 70, p. 62-74, 1963.

COELHO, G. V.; MIRANDA, C. S. de; CHALFUN, N. N. J.; NOBERTO, P. M.; HOFFMANN, A. Efeito do AIB e da sacarose no enraizamento de estacas herbáceas de goiabeira (*Psidium guajava* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 16., 2000, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SBF, 2000. 1CD-ROM.

COSTA, C.; DWYER, L. M.; HAMILTON, R. I.; NANTAIS, L.; SMITH, D. A sampling method for measurement of large root systems with scanner-based image analysis. **Agronomy Journal**, Madison, v. 92, n. 4, p. 621-627, July/Aug. 2000.

COUVILLON, G. A.; EREZ, A. Rooting survival and development of several peach cultivars propagated from semi hardwood cuttings. **Hortiscience**, Alexandria, v. 15, n. 1, p. 41-43, Feb. 1980.

DAVIS, T. D.; HAISSIG, B. E. **Biology of adventitious root formation**. New York: Plenum Press, Basic life sciences, v. 62. 1994. 343 p.

DEL RIO, C.; CABALLERO, J. M.; RALLO, L. Influencia de la sacarosa sobre el enraizamiento de estaquillas vegetativas y fructíferas de variedad "Picual". **Olea**, Cordoba, v. 19, p. 103, dic. 1988.

DE SILVA, H. N.; HALL, A. J.; TUSTIN, D. S.; GANDAR, P. W. Analysis of distribution of root length density of apple trees on different dwarfing rootstocks. **Annals of Botany**, London, v. 83, n. 4, p. 335-345, Apr. 1999.

DEDECCA, D. M. Anatomia e desenvolvimento ontogenético de *Coffea arabica* L. var. Tupica cramer. **Bragantia**, Campinas, v. 16, n. 23, p. 31-365, 1957.

DEMÉTRIO, C. G. B. Modelos lineares generalizados na Experimentação Agronômica. In: SIMPÓSIO DE ESTATÍSTICA APLICADA A EXPERIMENTAÇÃO AGRONÔMICA, 5.; REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 38., 1999, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UFRGR, 1999.

DILLIOND, D.; KLINGAMAM, G. Hormone concentration and cutting maturity influences on rooting of red bud (*Cercis canadensis*). **Horscience**, Alexandria, v. 27, n. 6, p. 634-638, June 1992.

DORE, J. Physiology of generation in cormophytes. In: RUHLAND, W. (Ed.). **Encyclopedia of plant Physiology**. New York: Springer-Verlag, 1965. v. 15, n. 2, p. 1-91.

DUTRA, L. F. **Efeito do substrato no enraizamentode estacas e sobrevivência de mudas de ameixeira (*Prunus salicina* Lindl), cv. Frontier**. 1995. 67 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

DUTRA, L. F.; KERSTEN, E.; FACHINELLO, J. C. Época de coleta, ácido indolbutírico e triptofano no enraizamento de estacas de pessegueiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 327-333, abr./jun. 2002.

DUTRA, L. F.; SCHWENGBER, J. F.; TONIETTO, A.; KERSTEN, E. Enraizamento de estacas e ramos de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 5, n. 2, p. 93-95, maio/ago. 1999.

ESAU, K. **Anatomia das plantas com semente**. 12. ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1993.

EVANS, H. R. Recent work on the propagation of coffee from cuttings in Kenya. **Tropical Agriculture**, Trinidad, Guilford, v. 35, n. 1, p. 67-76, Jan. 1958.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G. R. de L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2. ed. Pelotas: UFPEL, 1995. 178 p.

FACHINELLO, J. C.; LUCCHESI, A. A.; GUTIERREZ, L. E. Influência do anelamento na nutrição e no enraizamento de estacas lenhosas do porta-enxerto 'Malling Merton 106'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 9, p. 1025-1031, set. 1988.

FADELLI, S.; SERA, T. Estaquia direta em sacola para a propagação de híbridos F<sub>1</sub> de *Coffea arabica* L. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2001, Vitória, ES. **Resumos...** Vitória, ES: CBPDC, 2001. p. 1788-1794.

FAHN, A. **Plant anatomy**. 4. ed. Exeter: BPC Wheatons, 1995. 588 p.

FARIA, J. C.; SACRAMENTO, C. K. do. Enraizamento e crescimento de estacas herbáceas do cacaueiro (clones CEPEC 42, TSH 516 e TSH 1188) em função da aplicação do ácido indolbutírico (AIB). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 192-194, abr. 2003.

FARINA, E.; VERUGGIO, R. Carbohydrate levels and rooting potential of rose cuttings (*Rosa hybrida*). The effect of glucose treatment. **Annali dell'Instituto Sperimentale per la Floricoltura**, Bologna, v. 14, n. 1, p. 47-66, 1985.

FERREIRA, G.; CEREDA, E. Efeito da interação entre fitoreguladores, substratos e tipos de estadas no enraizamento de atemóia (*Annona cherimola* MILLx *A. squamosa* L.) **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 21, n. 1, p. 79-83, abr. 1999.

FERREIRA, R. de C.; MARTINS, A. B. G. Efeito do ácido indolbutírico (AIB) e da sacarose no enraizamento de estacas herbáceas de acerola (*Malpighinia glabra* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 14., 1996, Curitiba. **Anais...** Curitiba: SBF, 1996. p. 33.

FERRI, M. G. **Fisiologia vegetal**. 2. ed. São Paulo: USP, 1979. 113 p.

FINER, L.; MESSIER, C.; DE GRANDPRÉ, L. Fine-root dynamics in mixed boreal conifer-broad-leaved forest stands at different successional stages after fire. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 27, n. 3, p. 304-314, Mar. 1997.

GAUTAM, D. R.; CHAUHAN, J. S. Standardization of IBA concentration and season on rooting of wild olive cuttings under intermittent mist. **Indian Journal of horticulture**, New Delhi, v. 47, n. 3, p. 278-285, Sept. 1990.

FUJII, T.; NAKANO, M. Studies on rooting of the hardwood cuttings of grape vine, c. v. Delaware. **Japan Society Horticultural Science**, Tokyo, v. 43, n. 2, p. 125-131, 1974.

GIROUARD, R. M. Initiation and development of adventitious root formation. In: JACKSON, M. B. (Ed.). **New root formation in plants and cuttings**. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers, 1967. p. 11-140.

GIROUARD, R. M. Physiological and biochemical studies of adventitious root formation. Extractible rooting cofactors from *Hedera helix*. **Canadian Journal Botany**, Ottawa, v. 47, n. 5, p. 687-699, Mar. 1969.

GONTIJO, T. C. A.; ALVARES, B. F.; PIO, R.; RUFINI, J. C. M.; MEDONÇA, V.; COELHO, J. H. C.; RAMOS, J. D.; CHALFUN, N. N. J. Propagação vegetativa do “maracujazeiro-doce” por estaquia. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFLA CIENTÍFICA DA UFLA-CICESAL, 15., 2002, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2002a. p. 37.

GONTIJO, T. C. A.; CARRIJO P.; PIO, R.; RUFINI, J. C. M.; MEDONÇA, V.; VÍLLA, F.; RAMOS, J. D.; VALLE, M. R. do. Estaquia do “maracujazeiro-azedo” utilizando-se ácido indol-butírico e sacarose. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFLA CIENTÍFICA DA UFLA-CICESAL, 15., 2002, Lavras. **Anais....** Lavras: UFLA, 2002b. p. 37.

GRAÇA, J. **Estudo sobre a propagação do maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg) através de sementes e estacas**. 1990. 92 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de São Paulo. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

GUAN, H.; DE KLERK, G. Stem segments microcuttings take up auxin predominantly via the cut surface and not via epidermal surface. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 86, n. 1/2, p. 23-32, 2000.

HARRIS, G.; CAMPBELL, G. Automated quantification of roots using sample image analyzer. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, n. 6, p. 935-938, Nov./Dec. 1989.

HARTMAN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JR., F. R.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 6. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1997. 770 p.

HASSIG, B. E. Carbohydrate and amino acid concentrations during adventitious root primordium development in *Pinus banksiana* Lamb. Cutting. **Forestry Science**, Washington, v. 28, n. 4, p. 813-821, Dec. 1982.

HAUN, J. R.; CORNELL, P. W. Rooting response of geranium (*Pelargonium hortorum*, B. var. Ricard) cuttings as influenced by nitrogen, phosphorus, and potassium nutrition of stock plant. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Maryland, v. 58, p. 317-323, June. 1951.

HIMMELBAUER, M.; LOISKANDL, W.; KASTANEK, F. Estimation of root morphological characteristics using Images analyses systems. **17<sup>th</sup> WCSS**, 14-21 August 2002, Thailand.

HOWARD, B. H. Field establishment of apple rootstock hardwood cutting as influenced by conditions during a prior stage in heated bins. **Journal of Horticultural Science**, Kent, v. 53, n. 1, p. 31-37, Jan. 1978.

HOWARD, B. H. The influence of 4 (Indolyl <sub>3</sub>) butyric acid and basal temperature on the rooting of apple rootstock hardwood cuttings. **Journal of Horticultural Science**, Kent, v. 43, n. 1, p. 23-31, Jan. 1968.

HOWARD, B. H. Moisture change as a component of disbudding responses in studies of supposed relationships between bud activity and rooting in leaf cuttings. **Journal of Horticultural Science**, Kent, v. 55, n. 2, p. 171-180, Apr. 1980.

HOWARD, B. H.; GARNER, R. J. **High temperature storage of hardwood cuttings as an aid to improved establishment in the nursery**: report of East Malling Research Station East Malling, Kent, 1965. p. 83-87.

JANICK, J. **A ciência da horticultura**. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1966. 485 p.

JARVINS, B. C. Endogenous control of adventitious rooting in nonwoody cuttings. In: JACKSON, M. B. (Ed). **New root formation in plants and cuttings**. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1986. p. 191-222,

JESUS, A. M. S. **Obtenção antecipada de mudas de videira (*Vitis spp.*)**. 1994. 75 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, MG.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. 2. ed. New York: MC. Gray Hill, 1940. 523 p.

KACHECHEBA, J. L. Anatomical aspects of the formation and growth of roots in stem cuttings of some species of *Hibiscus* L. Stem anatomy and its relation of the formation and growth of roots. **Horticultural Research**, Midlothian, v. 14, n. 2/3, p. 57-67, 1975.

KASPAR, T. C.; EWING, R. P. ROOTEDGE: Software for measuring root length from desktop scanner images. **Agronomy Journal**, Madison, v. 89, n. 6, p. 932-940, Nov./Dec. 1997.

KAWASE, M. Root-promoting substances in *Salix alba* L. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 23, n. 1, p. 159-170, 1970.

KELLY, R. J.; MOSER, B. C. Influence of temperature and auxin on root regeneration by seedlings of *Liriodendron tulipifera* L. **Hortscience**, Alexandria, v. 18, n. 6, p. 891-892, Dec. 1983.

KOUKOURIKOU-PETRIDOU, M.; PORLINGIS, I. Presowing application of gibberellic acid on seeds used for the mung bean bioassay, promotes root formation in cuttings. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 70, n. 2/3, p. 203-210, July 1997.

KRAMER, P. J.; KOZLOWSKI, T. T. **Fisiologia das árvores**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1960. 745 p.

KRAUS, ; ARDEIIN, **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédia: Edeir, 1997. 198 p.

LARSEN, H. S.; SOUT, H. D. B.; BOYER, J. M. Root growth potential seedling morphology and bud dormancy correlate with survival of loblolly pine seedlings planted in December in Alabama. **Tree Physiology**, Victoria, n. 1, p. 253-263, Jan. 1986.

LARSON, M. M. Root regeneration and early growth of red oak seedlings influence of soil temperature. **Forest Science**, Bethesda, v. 16, n. 4, p. 442-446, Dec. 1980.

LEBRUN, A.; TOUSSAINT, A. N.; ROGGEMANS, J. Description of *Syzygium paniculatum* Gaertn. 'Verlaine' and its propagation by stem cuttings. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 75, n. 2, p. 103-111, June 1998.

LEITE, C.; MENDES, A. N. G. Propagação vegetativa do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) "in vivo" através do enraizamento de estacas. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA ESAL/UFLA, 8.; SEMINÁRIO DE AVALIAÇÃO DO PIBIC/CNPq, 3., 1995, Lavras. **Resumos...** Lavras: UFLA, 1995. p. 204.

LEWIS, D. H. Boron lignification and the origin of vascular plants a unified hypothesis. **The New Phytologist**, Cambridge, v. 84, n. 2, p. 209-229, 1980.

LOACH, K.; WHALLEY, D. N. Water and carbohydrate relationships during the rooting of cuttings. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 79, p. 161-168, 1978.

LOPES, M. C. **Propagação vegetativa da mangueira (*Mangifera indica* L.) por estaquia.**

1995. 59 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

LOVELL, P. H.; WHITE, J. Anatomical changes during adventitious root formation. In: JACKSON, M. B. (Ed.). **New root formation in plants and cuttings**. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1986. p. 111-140.

MAGALHÃES, J. R.; WILCOX, G. E. Interação entre formas de nitrogênio e reguladores de crescimento na absorção de nutrientes e produção de matéria seca pelo tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 6, p. 579-585, jun. 1987.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: academic Press, 1986. 674 p.

MARTINS, A. B. G. **Uso de reguladores de crescimento no enraizamento de estacas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 1985. 23 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

MAYER, N. A.; PEREIRA, F. M.; NACHTIGAL, J. C. Propagação do Umezeiro (*Prunus mume* Siels & Zucc.) por estaquia herbácea. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 673-676, dez. 2001.

MENDES, J. E. T. Melhoramento de *Coffea arabica* L. var. bourbon. **Bragantia**, Campinas, v. 1, n. 1, p. 3-35, 1950.

MIRANDA, C. S. de; HOFMANN, A.; COELHO, G. de A.; NORBERTO, P. M.; CHALFUN, M. Z. H. Efeito do ácido indolbutírico e do substrato no enraizamento de estacas lenhosas de umezeiro (*Prunus x Mume*, sieb & Zucc.). In CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 16., 2000, fortaleza. **Resumos...** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical/ SBF, 2000. p. 595.

MURPHY, S. L.; SMUCKER, A. J. M. Evaluation of video image analysis and line intercept methods for measuring root systems of alfalfa and ryegrass. **Agronomy Journal**, Madison, v. 87, n. 5, p. 865-868, Sept./Oct. 1995.

NACHTIGAL, J. C.; PEREIRA, F. M.; CAMPO DALLHORTO, F. A.; OJIMA, M.; MARTINS, F. P. Propagação vegetativa do umezeiro (*Prunus mume*) por meio de estacas herbáceas. **Revista brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 21, n. 2, p. 226-228, Ago. 1999.

NANDA, K. K.; JAIN, M. K. Utilization of sugars and starch as carbon sources in the rooting of etiolated stem segments of *Populus niagra* L. **New Phytologist**, Cambridge, v. 71, n. 5, p. 825-829, 1972.

NELDER, J. A.; WEDDERBURN, W. M. Generalized Linear Models. **Journal of the Royal Statistical Society**, London, v. 135, n. 3, p. 370-84, 1972.

NELSON, S. H.; TUKEY, H. B. Effects of controlled root temperatures on the growth of East Malling rootstocks in water culture. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 31, n. 1, p. 55-63, Jan. 1956.

OLIVEIRA, A. F. de **Enraizamento de estacas semilenhosas e cultura de embriões in vitro de oliveira (*Olea europala* L.)**. 2001. 122 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OLIVEIRA, J. A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; PEIXOYO, J. R.; PEREIRA, A. V. Efeito dos substratos e tipos de estacas no enraizamento e no desenvolvimento de estacas de Maracujazeiro-Azedo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 505-508, Ago. 2002.

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Jaboticabal: FUNEP, 1996. 83 p.

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; PINHO, S. Z. Interações entre auxina e ácido bórico no enraizamento de estacas caulinares de *Coffea arabica* L. Cv Mundo Novo. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 49, n. 1, p. 23-27, mar. 1992.

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; PINHO S. Z.; RODRIGUES, S. D. de. Enraizamento de estacas de café cv. 'Mundo Novo' submetidas a tratamentos auxínicos e com boro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 7, p. 773-77, jul. 1993.

ORTON, P. J. The influence of water stress and abscisic acid on the root development of *Chrysanthemum morifolium* cuttings during propagation. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 54, n. 3, p. 171-180, July 1979.

PACHECO, A. C.; CASTRO, P. R. C.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA. Aspectos anatômicos do enraizamento da videira muscadínia (*Vitis rotundifolia* Michx.) através de alporquia. **Scientia agrícola**, Piracicaba, v. 55, n. 2, p. 210-217, maio/ago. 1998.

PAN, W. L.; BOLTON, R. P. Root quantification by edge discrimination using a desktop scanner. **Agronomy Journal**, Madison, v. 83, n. 6, p. 1043-1052, Nov./Dec. 1991.

PAULINO, A. J.; MATIELLO, J. B.; PAULINI, A. E. **Produção de mudas de café 'Conilon' por estacas: instruções técnicas sobre a cultura de café no Brasil**. Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1985. 12 p.

PEARSE, H. L. The effect of nutrition and phytohormones on the rooting of vine cuttings. **Annals of Botany**, Oxford, v. 7, n. 26, p. 123-132, 1943.

PEREIRA, A. B. **Enraizamento de estacas de *Coffea arabica* L.** 2000. 75 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PERKINS, L. M.; KLING, G. Root regeneration in magnólia x 'soulangiana' and magnolia x 'Betty' in response to auxin applications. **HortScience**, Maryland, v. 22, n. 5, p. 889-891, Oct. 1987.

PIJUT, P. M.; MOORE, M. J. Early season softwood cuttings effective for vegetative propagation of *Juglans cinerea*. **HortScience**, Alexandria, v. 37, n. 4, p. 697-700, July 2002.

PIO, R. **Ácido indolbutírico e sacarose no enraizamento de estacas apicais e desenvolvimento inicial da figueira (*Ficus carica* L.)**. 2002. 107 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PIVETTA, K. F. L. **Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas herbáceas de noqueira macadâmia (*Macadamia integrifolia*) e desenvolvimento inicial de mudas.** 1990. 91 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, SP.

PRASAD, J.; RABBANI, A. Rooting of hardwood cuttings of guava (*Psidium guajava* L.) through bottom heat. **Progressive Horticulture**, Ottar Pradesh, v. 20, n. 12, p. 20-23, Dec. 1988.

PRAT, L.; BOTTI, C.; PALZKILL, D.; Rooting of joboba cuttings the effect of clone, substrate composition and temperature. **Industrial crops and products**, Amsterdam, n. 9. p. 47-52, 1998.

PRATT, C. Vegetative anatomy of cultivated grapes - a review. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 25, n. 3, p. 131-150, 1974.

PURUSHOTHAM, K.; SULLADMATH, U. V.; RAMAIAH, P. K. Seasonal changes in biochemical constituents and their relation to rooting of coffee (*Coffea canephora* Pierre) sucher cuttings. **Journal Coffee Research**, Karnataka State, v. 14, p. 117-130, 1984.

RAMÍREZ, M.; URDANETA, A.; MARÍN, M. Injertacion y estaquillado en el guayabo bajo condiciones de bosque muy seco tropical. **Revista de la Facultad de Agronomía Luz**, Maracaibo, v. 16, p. 36-42, 1999. Supplement 1.

RAMOS, L. C. da S.; CARVALHO, A. Shoot and root evaluations of seedlings from *Coffea* genotypes. **Bragantia**, Campinas, v. 56, n. 1, p. 59-68, 1997.

RENA, A. B.; GUIMARÃES, P. T. G. **Sistema radicular do cafeeiro: estrutura, distribuição, atividade e fatores que o influenciam.** Belo horizonte: EPAMIG, 2000. 80 p. (EPAMIG. Serie Documentos, n. 37).

REANÕ, P.C. Histological study and observations on effects of some synthetic growth substances on stem tip cuttings of coffee. **Philippine Agriculturist**, Laguna, 29: 87-99-1940.

REZENDE, R. A. **Efeito de fitoreguladores, antioxidante e defensivos na propagação vegetativa *in vivo* e *in vitro* de *Coffea arabica* L.** 1996. 51 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ROMEIRO, R. da S. Enraizamento de estacas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) em leito de areia. **Seiva**, Viçosa, v. 29, n. 78, p. 1-8, 1973.

RUFATO, L.; KERSTEN, E. Enraizamento de estacas de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch), cvs . Esmeralda e BR2, submetidas à estratificação e ao ácido indolbutírico. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 2, p. 191-194, ago. 2000.

RUFATO, L.; TREVISAN, R.; GONÇALVES, E. D.; ROSSI, A.; BUSO, L. H.; GUARDA, V. C.; KERSTEN, E. Uso do hidróxido de potássio e do álcool etílico no preparo de soluções de ácido indolbutírico para o enraizamento de estacas de pessegueiro cultivar BR 2. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 3, p. 413-415, dez. 2000.

SACHS, R. M.; LORETI, F.; DEBIE, J. Plant rooting studies indicate schlerenchyma tissue is not a restricting factor. **California Agriculture**, Berkeley, v. 18, n. 1, p. 4-5, 1964.

SATOO, S. Origin and development of adventitious roots in layered branches of 4 species of conifers. **Japanese Forest Society Journal**, Tokyo, v. 37, p. 314-316, 1955.

SCARAMUZZI, F. Alcune osservazioni sul potere rizogeno delle tallee. **Rivista di Ortoflorofruticoltura**, Bologna, v. 85, n. 1, p. 5-6, 1960.

SCARPARE FILHO, J. A.; TESSARIOLI NETO, J.; COSTA JÚNIOR, W. H. da; KLUGE, R. A. Efeito do Ácido Indolbutírico no Enraizamento de estacas herbáceas de Jaboticabeira 'SABARA' (*Myrciaria jaboticaba*) em condições de nebulização. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 21, n. 2, p. 146-149, ago. 1999.

SENA-GOMES, A. R.; CASTRO, C. C.; MORENO-RUIZ, M. M.; ALMEIDA, H. A. Avanços na propagação clonal do cacauzeiro no Sudeste da Bahia. In: PEREIRA, J. L. et al. (Ed). **Atualização sobre produção massal de propágulos de cacau geneticamente melhorado**, Atas. Ilhéus: CEPEC: 1998. p. 85-89.

SMIT, A L.; SPRANGERS, J. F.; SABLİK, P. W.; GROENWOLD, J. Automated measurement of root length with a three-dimensional high-resolution scanner and image analysis. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 200, n. 1, p. 95-105, 1975.

SHIMOYA, C.; GOMIDE, C. J. Desenvolvimento anatômico da raiz adventícia em estacas de figueira (*Ficus carica* L.). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 16, n. 87, p. 41-49, jan./mar. 1969.

SILVA, I. C. **Propagação vegetativa**; aspectos morfo-fisiológicos. Itabuna: CEPLAC, 1985. p. 1-26. (CEPLAC. Boletim Técnico ; v. 4)

SILVA, J. S.; BERBET, P. A. **Colheita secagem e armazenamento de café**. Viçosa: Aprenda fácil, 1999. 146 p.

SMITH, D. R.; THORPE, T. A. Root initiation in cuttings of *Pinus radiata* seedlings: I Developmental sequences. **Journal of Experimental Botany**, Cambridge, v. 26, n. 91, p. 184-192, 1975.

SONDAHL, M. R.; MONACO, L. C.; SHARP, W. R. In vitro methods applied to coffee. In: THORPE, T. A. (Ed.). **Plant tissue culture: methods and applications in agriculture**. New York: Academic Press, 1981. p. 325-348.

STANGLER, B. B. Origin and development of adventitious roots in stem cuttings of chrysanthemum, carnation, and rose. **New York Agricultural Experiment Station Memory**, New York, v. 342, 1956.

SYLVAIN, P. G. **Inovaciones agrotecnicas in cafeicultura**. San José: Instituto Interamericano de Ciências Agrícolas – OEA, 1979. 34 p. (Publication Miscelania, 202).

TAGLIAVINI, M.; VETO, L. J.; LOONEY, N. E. Measuring root surface area and mean root diameter of peach seedlings by digital image analysis. **HortScience**, Alexandria, v. 28, n. 10, p. 1129-1130, Oct. 1993.

TCHOUNDJEU, Z. E.; LEAKEY, R. R. B. Vegetative propagation of *Lovoa trichilioides*: effects of provenance, substrate, auxinas and leaf area. **Journal of Tropical Forest Science**, Kuala Lumpur, v. 13, n. 1, p. 116-1129, Jan. 2001.

TIZIO, R.; ALMEIDA PONS, G.; TRIONE, S. O.; TRIPPI, V. S. Estudios sobre enraizamento em vid. VII. Variación anual de la capacidad rizógena y su relación com tratamientos hormonales. **Phyton**, Buenos Aires, v. 20, n. 1, p. 1-12, 1963.

TOFANELLI, M. B. D.; CHALFUN, N. N. J.; HOFFMANN, A.; CHALFUN JÚNIOR, A. Enraizamento de estacas lenhosas e semilenhosas de cultivares de ameixeira com várias concentrações de ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 583-585, ago. 2002.

TOFANELLI, M. B. D.; RODRIGUES, J. D.; ONO, E. O. Enraizamento de estacas lenhosas de pessegueiro cv. Okinawa em diferentes diâmetros de ramos, substratos e recipientes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 3, p. 437-442, maio/jun. 2003.

TONIETTO, A.; FORTES, G. R. L.; SILVA, J. B da. Enraizamento de mini estacas de ameixeira. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 643-646, dez. 2001.

TORRES, A. C. **Anatomia da origem e do desenvolvimento de raiz adventícia em estacas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis Sims*)**. Viçosa: UFV, 1976. 33 p.

TRIONE, S. O.; ALMEIDA PONS, G.; TIZIO, R.; TRIPPI, V. S. Estudios sobre enraizamento em vid. VIII. Variación anual de la capacidad rizógena y su relación con tratamientos hormonales. **Phyton**, Buenos Aires, v. 20, n. 1, p. 13-18, 1963.

VALLE, C. F.; CALDEIRA, C. F. Efeito do aquecimento basal no enraizamento de *E. urophylla*. **Silvicultura**, São Paulo, v. 2, n. 14, p. 121-124, out./dez. 1981.

VIERSKOV, B. Relations between carbohydrates and adventitious root formation. In: DAVIS, T. D.; HAISSIG, B. E.; SANKLHA, N. (Ed.). **Adventitious root formation in cuttings**. Portland: Discorides Press, 1988. p. 70-78.

VIERSKOV, B.; ERIKSEN, E. N. Dynamics of extractable carbohydrates in *Pisum sativus* L. I. Carbohydrate and nitrogen content in pea plants and cuttings grow at two different irradiances. **Physiologia Plantarum**, Conpenhagen, v. 55, n. 2, p. 167-173, Feb. 1982.

WEAVER, R. J. **Reguladores del crecimiento de las plantas em la agricultura**. México: Editorial Trillas, 1976. 544 p.

WHALLEY, D. N.; LOACH, L. Rooting of two ornamentals from dormant, leafless (hardwood) cuttings and their subsequent establishment in containers. **Journal of Horticultural Science**, Kent, v. 56, n. 2, p. 131-138, Apr. 1981.

WHITE, J.; LOWELL, P. H. The anatomy of root initiation in cuttings of *Griselinia litoralis* and *Griselinia lucida*. **Annals of Botany**, New York, v. 54, n. 1, p. 7-20, July 1984.

XAVIER, A. **Silvicultura clonal I - Princípios e técnicas de propagação vegetativa**. Viçosa, MG: UFV, 2002. 64 p. (Cadernos Didáticos ; 92)

ZOON, F. C.; VAN TIENDEREN, P. H. A rapid quantitative measurement of root length and root branching by microcomputer image analysis. **Plant Soil**, Dordrecht, v. 126, n. 2, p. 301-308, Aug. 1990.

## **CAPÍTULO 3**

**Micropropagação do cafeeiro (*Coffea arabica* L.)  
com BAP em meio de pré-cultivo e diferentes  
concentrações de BAP e TDZ em meio de subcultivo**

## RESUMO

JESUS, Adriana Madeira Santos. **Micropropagação do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) com BAP em meio de pré-cultivo e diferentes concentrações de BAP e TDZ em meio de subcultivo.** In: Propagação vegetativa de cafeeiros (*Coffea arabica* L.). 2003. p.126-160. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

A multiplicação *in vitro* possibilita a obtenção de grande número de plantas e a garantia da uniformidade genética. Objetivou-se avaliar o efeito residual do BAP no meio de pré-cultivo e de concentrações BAP e TDZ no de subcultivo, sobre proliferação de brotos axilares. Segmentos nodais de cafeeiro 'Caturra Amarelo' estabelecidos *in vitro* foram pré-cultivados em meio MS sem regulador de crescimento ou em MS acrescido de 6 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. Após 180 dias, os explantes foram inoculados em meio de cultivo MS acrescido de 0, 6, 9, 12 e 15 mg.L<sup>-1</sup> de BAP (experimento 1). No segundo experimento, segmentos nodais foram inoculados em meio MS acrescido de 0; 0,05; 0,15; 0,45 e 1,35 mg.L<sup>-1</sup> de TDZ. O meio foi ajustado para pH 5,8 e solidificado com ágar 0,7%. Os explantes foram transferidos para sala de crescimento com temperatura de 27°C±1, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 32μM.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, durante 120 dias. Há efeito residual do BAP adicionado ao meio de pré-cultivo. A adição de 9-10 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e 0,15 - 1,35 mg.L<sup>-1</sup> de TDZ no meio de subcultivo incrementa o número total de brotações, o número de brotações maiores que 1cm e o peso da matéria fresca das brotações. O BAP aumenta o peso da matéria seca das brotações.

---

\* Comitê Orientador: Samuel Pereira de Carvalho – UFLA (Orientador), Antônio Nazareno Guimarães Mendes – UFLA.

## ABSTRACT

JESUS, Adriana Madeira Santos. **Micropropagation of coffee (*Coffea arabica* L.) with BAP in pre-cultivation medium and different concentrations of BAP and TDZ in subcultivation medium.** In: Vegetative propagation of Coffe (*Coffea arabica*.L.). 2003. p. 126-160. Thesis (Doctor of Science in Agronomy/Agriculture) – Federal University of Lavras, Lavras, MG. \*

The *in vitro* multiplication makes possible the obtaining of high number of plants and the warranty of the genetic uniformity. The residual effect of BAP in the pre-culture medium and BAP and TDZ in the one sub-culture, on axillary buds proliferation were evaluated. 'Caturra Amarelo' coffee nodal segments established *in vitro* were pre-cultivated in MS medium without growth regulators and another in MS medium added BAP 6 mg.L<sup>-1</sup>. After 180 days the nodal segments were inoculated in MS medium added BAP at 0, 6, 9, 12 and 15 mg.L<sup>-1</sup> concentrations (experiment 1). In the second experiment, the nodal segments were inoculated in MS medium added TDZ at 0; 0,05; 0,15; 0,45 and 1,35 mg.L<sup>-1</sup> concentrations. The pH of medium was adjusted for 5,8 and solidified with agar 0,7%. The explants were transferred to the growth room with 27°C ±1 temperature, 16h photoperiod and of 32μM.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> light intensity during 120 days. There is residual effect of BAP added to the pre-culture medium. The addition BAP (9-10 mg.L<sup>-1</sup>) and TDZ (0,15 - 1,35 mg.L<sup>-1</sup>) in the subculture medium increases the total sprouts number, and the sprouts fresh matter weight. The BAP the sprouts dry matter weight.

---

\* Guidance Committee: Samuel Pereira de Carvalho - UFLA (Major Professor), Antônio Nazareno Guimarães Mendes – UFLA.

### 3 INTRODUÇÃO

A multiplicação “in vitro” é considerada de grande importância para a propagação de genótipos excepcionais em larga escala. A micropropagação oferece o potencial de se obter altas taxas de multiplicação a partir de segmentos de tecidos muito pequenos e de conseguir grande número de indivíduos isentos de microorganismos em espaços bastante reduzidos (Dublin, 1980; Sondahl et al., 1981 e Pasqual & Barros, 1991).

A estrutura genética do gênero *Coffea* favorece o melhoramento por introgressão. A hibridação natural ou artificial entre diferentes espécies tem sido de grande importância no melhoramento, pois características de interesse que faltam em uma cultivar são encontradas em outra cultivar e também em materiais selvagens. São muitos os exemplos de híbridos interespecíficos naturais e artificiais relatados em literatura. No entanto, a exploração comercial do vigor híbrido não tem sido possível em virtude da dificuldade de clonagem de plantas da espécie. O aperfeiçoamento das técnicas de micropropagação para *Coffea arabica* poderá permitir a multiplicação clonal rápida de plantas excepcionais de e de seus híbridos.

A propagação vegetativa por cultura de brotos axilares tem sido demonstrada no gênero. Cálculos teóricos com modelos da cultura de *Coffea arabica* sugerem uma capacidade de produção de cerca de 13.000 brotações/nó após 15 meses de cultivo contínuo (Medina Filho et al., 1983). Staristky (1970) foi o pioneiro na publicação de trabalhos com café em cultura de tecidos, obtendo êxito na indução de calos a partir de folhas de varias espécies e produção de embriões somáticos na espécie *Coffea canephora*. Depois, diversos trabalhos foram realizados em diferentes países utilizando vários métodos para micropropagação de *Coffea* sp.

Na literatura consultada foram encontradas poucas citações sobre o efeito residual dos reguladores de crescimento nos diversos subcultivos necessários durante o processo de micropropagação. Segundo Grattaplagia & Machado (1998), o efeito das citocininas não se restringe a uma subcultura, pois, diversas vezes, constata-se um efeito residual de uma subcultura para outra. Isso é positivo quando se trata, por exemplo, do processo de rejuvenescimento “in vitro” de espécies lenhosas pelas seguidas exposições à citocinina. Entretanto, pode ser problemático quando afeta o alongamento e torna-se fator limitante na fase de enraizamento posterior das brotações obtidas.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito residual do BAP no meio de pré-cultivo e de concentrações de BAP e TDZ no meio de subcultivo, sobre a proliferação, número de brotações maiores que um centímetro, peso da matéria fresca e peso da matéria seca de brotos axilares de *Coffea arabica*.

## 4 REFERENCIAL TEÓRICO

### **Cultura de tecidos**

Na cultura “in vitro”, células, tecidos ou órgãos são isolados do organismo e cultivados em condições assépticas, em um meio nutritivo cuja composição física e química é perfeitamente conhecida. Estas culturas são tratadas adequadamente por meio de um balanço nutricional e hormonal, estabelecendo-se condições ambientais bem controladas (Bandel et al., 1975). A premissa biológica dessa técnica é a de que todas as células das plantas são totipotentes, ou seja, quando colocadas em ambientes apropriados podem regenerar plantas inteiras (Crocomo et al., 1985).

As técnicas do cultivo de tecidos e células vegetais “in vitro” têm sido consideradas como complementares aos métodos convencionais de melhoramento genético. Por meio de técnicas, como cultura de embriões, de anteras, de protoplastos, de células somáticas e da manipulação genética “in vitro”, têm-se obtido resultados promissores na obtenção mais rápida de genótipos superiores. Essas metodologias, entretanto, não estão ainda bem definidas e desenvolvidas para a maioria das espécies, inclusive para as de maior importância econômica.

Segundo Dublin (1980), toda técnica que permita aumentar desde o início a taxa de multiplicação, manter as características genéticas e acelerar a instalação de determinada cultura ou variedade em viveiros apresenta um interesse real para o melhoramento genético. A multiplicação “in vitro” já é considerada de grande importância para a propagação em larga escala de genótipos excepcionais obtidos pelo melhoramento genético ou pela seleção de variações induzidas “in vitro”, cuja fixação, por via sexual, seria muito longa e cara.

A composição variável da mistura dos componentes do meio constitui o segredo do êxito da iniciação e do desenvolvimento da organogênese até a obtenção de microplântulas (Cambrony & Snoeck, 1983). Ela é extremamente importante para o desenvolvimento do explante, devendo fornecer, além dos macros e micronutrientes, uma fonte de carboidratos (normalmente a sacarose) para substituir o carbono atmosférico, pois as células, tecidos e plântulas produzidos “in vitro” não encontram condições adequadas de iluminação e concentração de CO<sub>2</sub> e podem não apresentar teores de clorofila suficientes para realizar fotossíntese que sustente o crescimento dos mesmos. Também devem ser adicionados ao meio alguns componentes orgânicos, como vitaminas e aminoácidos (Calda et al., 1990; Torres et al., 1998). Diversos outros produtos, como sucos de frutas, leite de coco, extratos de leveduras e proteínas hidrolisadas, foram usados no passado, substituindo vitaminas e aminoácidos ou mesmo como suplementos adicionais. Mas como é importante que o meio seja o mesmo todas as vezes em que for preparado, materiais que podem variar em sua composição devem ser evitados, mesmo que proporcionem resultados positivos (Pasqual, 2001).

A concentração da sacarose varia de acordo com a espécie cultivada “in vitro”, como tem sido observado por diversos autores. Para a maioria das espécies é utilizada a concentração indicada pelo meio MS 7 g.L<sup>-1</sup> (Caldas et al., 1990; Bertholy & Echeverry, 1987).

O meio de cultura adequado deve ser sempre adaptado para o explante e para cada espécie. Trabalhando com tabaco, Murashige & Skoog (1962) determinaram um meio complexo e rico em nutrientes que possibilitou o melhor desenvolvimento das culturas que os meios de cultura já utilizados. Desde então, a maioria dos pesquisadores usam o meio Murashige & Skoog -MS - ou seus derivados, "SH" e "B5". A principal diferença destes meios está na quantidade e forma de N e nas quantidades relativas de alguns macronutrientes

(Thorpe & Patel, 1984). O WPM (Wood Plant Medium) de Loyd & Mccown (1980) também é bastante utilizado, sendo formulado especialmente para a micropropagação de plantas lenhosas. Outros meios muito utilizados são o meio básico White (1943), o meio básico Knudson (modificado por Arditti, 1967), entre outros.

Na cultura de tecidos, a adição de reguladores de crescimento ao meio de cultura é de suma importância, pois reproduz o que ocorre naturalmente na planta. Combinações entre essas substâncias propiciam melhor crescimento e desenvolvimento do explante (Andrade, 1998). Um meio mínimo, sem adição de reguladores de crescimento, raramente serve de veículo para suportar o crescimento de tecidos normais (Krikorian et al., 1987).

As citocininas são indispensáveis para quebrar a dominância apical e induzir a proliferação de gemas axilares, sendo o tipo de citocinina e a sua concentração os fatores que mais influenciam o sucesso da multiplicação “in vitro” (Grattapaglia & Machado, 1998). A benzilaminopurina (BAP) tem sido muito eficaz para promover multiplicação em diversas espécies e parece ser a citocinina por excelência para multiplicação de partes aéreas e indução de gemas adventícias (George, 1993; Hu & Wang, 1983; Zarr & Mapes, 1985).

O TDZ (N-phenil-N-1,2,3-thiadiazol-5-iluréia) tem sido descrito como uma substância com potente efeito citocinínico, com capacidade para induzir brotações múltiplas em plantas quando aplicado em concentrações muito reduzidas (Bretane et al., 1994).

O TDZ é utilizado como regulador de crescimento em espécies lenhosas, sendo considerado uma das mais positivas inovações da cultura de tecidos nos últimos anos. Na maioria dos casos, tem apresentado resultados superiores em relação a outras citocininas na indução e multiplicação de brotos de várias espécies. Porém, algumas anormalidades têm sido relatadas (Huetteman & Preece, 1993; Lu, 1993; Meyer & Van Staden, 1988).

O mecanismo pelo qual o TDZ induz respostas semelhantes às da citocininas ainda não está completamente entendido. Uma hipótese é a de que o TDZ promova a conversão de citocininas ribonucleotídicas em ribonucleosídeos biologicamente mais ativos (Capelle et al., 1983). A outra hipótese é que as citocininas do grupo das fenil-uréias tenderiam a aumentar a citocinina autônoma dos tecidos, devido à capacidade do TDZ em estimular a biossíntese das citocininas endógenas ou alterar seu metabolismo. O TDZ possui maior estabilidade, pois não é facilmente degradado pelas citocininas oxidases (Mok et al., 1987).

Segundo Lu (1993) ao adicionar TDZ ao meio de cultura, o número de brotos foi maior que o observado em meio contendo citocinina, e as concentrações necessárias foram mínimas, variando de 0,002 mg.L<sup>-1</sup> a 0,09 mg.L<sup>-1</sup>. Inneco (1993), trabalhando com indução de brotações e calos em cotilédono de pimentão, utilizou 0,15 mg.L<sup>-1</sup> de TDZ, o qual apresentou o mesmo efeito que 4,00 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. Souza et al. (1998) obtiveram uma máxima regeneração de brotos, em repolho, em média 15 brotos por explante, na presença de 0,87 e 14,0 µM de TDZ.

### **Micropropagação de *Coffea arabica* L.**

A cultura de segmentos nodais é uma das aplicações mais práticas da cultura de tecidos e abrange a maioria dos sistemas de micropropagação, envolvendo o isolamento de órgãos meristemáticos pré-formados (normalmente gemas axilares) e a quebra da dominância apical (George, 1993). As gemas axilares que naturalmente se formam na inserções das folhas são estimuladas a crescer, dando origem a novas partes aéreas que, por sua vez, repetem o mesmo processo. Obtém-se assim um grande número de plantas saudáveis e geneticamente uniformes. As partes aéreas produzidas são em seguida enraizadas (Grattapaglia & Machado, 1998).

Para a micropropagação de cafeeiro, o explante terá um par de folhas reduzidas à metade e um fragmento de entre-nó. Os melhores explantes são fragmentos de talos ortotrópicos com gemas pré-existentes (Dublin, 1991).

O primeiro a trabalhar com a cultura “in vitro” de café, utilizando segmentos ortotrópicos de duas espécies de *Coffea* em meio contendo sais inorgânicos, sacarose, tiamina, cisteína e auxina, foi Staritsky (1970). Este autor obteve rápida produção de calos na espécie *Coffea arabica* e de embriões e plântulas na espécie *Coffea canephora*. Depois, diversos trabalhos foram realizados em diferentes países utilizando vários métodos para micropropagação de *Coffea* sp, regenerando plantas por meio de neoformação de gemas, de internódios verdes, de ramos ortotrópicos e por indução de embriogênese somática a partir de explantes foliares (Dublin, 1980; Herman & Haas, 1975; Pierson et al., 1983; Sondahl & Sharp, 1997; Bandel et al., 1975; De Pena, 1983; Monaco et al., 1977; Owuor, 1987; Caldas et al., 1998; Thorpe & Patel, 1984; Maciel, 2001).

Crocomo et al. (1985) observaram o desenvolvimento de brotos em explantes originados de ramos ortotrópicos no mesmo meio utilizado por Staritsky (1970), suplementado com caseína hidrolizada, vitaminas de White & 0,05 mg.L<sup>-1</sup> de cinetina.

Sondahl & Nakamura (1980) e Nakamura & Sondahl (1981), cultivando nós ortotrópicos e plagiotrópicos de Mundo Novo com meio MS, acrescido de tiamina 10 mg.L<sup>-1</sup>, piridoxina 3,08 mg.L<sup>-1</sup>, ácido nicotínico 3,69 mg.L<sup>-1</sup>, inositol 100 mg.L<sup>-1</sup>, cisteína 24,24 mg.L<sup>-1</sup>, sacarose 20 g.L<sup>-1</sup>, 6-BA 11,25 mg.L<sup>-1</sup>, AIA 0,1mg.L<sup>-1</sup> e ágar 10 g.L<sup>-1</sup>, obtiveram resposta em 44% dos nós cultivados provenientes de ramos ortotrópicos, com desenvolvimento médio de 1,33 brotações/nó e 4,4 brotações/nó, respectivamente. Os autores observaram que os ramos plagiotrópicos não apresentaram crescimento de gemas.

A partir de segmentos nodais de *Coffea arabica*, Custer et al. (1980) obtiveram uma baixa taxa de multiplicação (2,2 novas brotações/explante) usando meio MS, acrescido de BAP 9,9 mg.L<sup>-1</sup> e AIA 0,1 mg.L<sup>-1</sup>. Os mesmos autores, utilizando diversas citocininas para o desenvolvimento de gemas axilares, obtiveram melhor resultado após sete semanas de cultivo com 10 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, conseguindo, em média, 2,8 gemas/nó. BAP também mostrou-se eficiente para multiplicar o híbrido interespecífico Arabusta (Dublin, 1980).

Nakamura & Sondahl (1983), utilizando 11,25 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e 1,75 mg.L<sup>-1</sup> de AIA, obtiveram, com o desenvolvimento das gemas dormentes nas axilas foliares e subsequente recuperação de plântulas derivadas das gemas, em média, 1,5 brotação/nó para o 'Icatu', 1,6 brotação /nó para o 'Mundo Novo' e 'Conilon' e 1,7 brotações/nó para 'Catuaí'. Sondahl et al. (1984), cultivando nós de café em meio MS acrescido de 9,91 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, conseguiram obter um desenvolvimento médio de 2,2 brotações/nó.

Berthouly & Echeverry (1987), utilizando diferentes linhagens de Catimor, em meio MS com várias concentrações de sacarose e BAP, obtiveram de 7 a 9 micro-nós/explante inicial a cada 80 dias de cultivo, totalizando cerca de 20.000 plântulas por ano. Sondahl & Loh (1987) relataram que, em cultura de nós de cafeeiros, deve-se usar um meio primário por 50 a 60 dias contendo MS com 25% da concentração dos sais inorgânicos, AIA 0,5 mM, BAP 25 mM, carvão ativado 5 g.L<sup>-1</sup> e sacarose 0,03 M. Os autores relatam que o número de brotos é parcialmente controlado pelo nível de citocinina, porém, níveis muito elevados podem induzir mudanças de ordem fisiológica e bioquímica, levando à baixa frequência de enraizamento posterior das brotações obtidas.

Raghuramulu (1989), utilizando como explantes fragmentos de ramos ortotrópicos de aproximadamente 2 a 3 mm de comprimento, de cultivares de *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora*, verificou que a melhor combinação entre

reguladores de crescimento foi a de 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP com 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de AIA, promovendo maior crescimento e desenvolvimento do explante.

Barros & Pasqual (1989a), usando explantes de Catuaí em meio MS, contendo vitaminas de Morel, mioinositol 1 mg.L<sup>-1</sup>, glicina 2 g.L<sup>-1</sup>, sacarose 30 g.L<sup>-1</sup> e ágar 7 g.L<sup>-1</sup> com a concentração de BAP variando de 0 a 4 mg.L<sup>-1</sup> na ausência e na presença de ANA 0,2 mg.L<sup>-1</sup>, obtiveram a melhor proliferação de gemas e brotações menores que 1cm com 3,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. Para brotações maiores que 1 cm, a melhor concentração de BAP foi 0,5 mg.L<sup>-1</sup> após 90 dias de cultivo. Em outro trabalho, Barros & Pasqual (1989b) obtiveram proliferação média de 4 brotações/explante com o meio MS acrescido de 3 mg.L<sup>-1</sup> de 6-BA, após 90 dias da inoculação. Ainda Barros & Pasqual (1990), trabalhando com as concentrações de 0 a 6 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e de 0 a 10 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>, e meio MS, observaram que o número total de brotos aumenta com o aumento da concentração BAP e diminui com o aumento de GA<sub>3</sub>. A maior porcentagem de brotos aptos para o enraizamento foi obtida com 5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e 10,0 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>.

Andrade (1998), testando duas citocininas, BAP e TDZ, obteve um comportamento, para o ‘Catuaí’, semelhante para os dois reguladores, com uma brotação média por explante de 2,42 e 2,15, respectivamente. Forni (1993) obteve maior produção de brotos usando os componentes do meio MS acrescido de 9 mg.L<sup>-1</sup> de BAP com período de crescimento e desenvolvimento de 120 dias.

Ribeiro (2001), variando as concentrações das fontes de nitrogênio (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> e KNO<sub>3</sub>) do meio básico MS acrescido de 3 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> e de 6 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, obteve uma melhor produção de brotações, 2,5/explante, quando utilizou 75% do KNO<sub>3</sub> associado com até 50% do NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>. Em outro experimento, o autor testou os meios MS, Knudson, “WPM” e White, todos suplementados com a mesma combinação de reguladores acima, observando

que os meios MS e “WPM” foram os melhores para a proliferação de brotos, conseguindo até 3,5 brotações/explante. Também utilizando combinações de BAP e GA<sub>3</sub>, Palú (2002), testando explantes contendo um ou dois nós, conseguiu como melhor resultado a produção de aproximadamente 5 brotações/explantes nos explantes de dois nós, enquanto que para o de um nó foi de aproximadamente 3,5 brotações/explante. Na prática, isso mostra que o uso de apenas um parece ser mais vantajoso.

Como o processo de micropropagação exige um ou mais subcultivos, inclusive em alguns casos mudando-se o regulador de crescimento, pode haver efeito cumulativo ou residual de um subcultivo para outro. Segundo Grattapaglia & Machado (1998), o efeito das citocininas não se restringe a uma subcultura, pois diversas vezes constata-se um efeito residual de uma subcultura para outra. Esse efeito é positivo quando se trata, por exemplo, do processo de rejuvenescimento “in vitro” de espécies lenhosas pelas seguidas exposições à citocinina. Entretanto, pode ser problemático quando afeta o alongamento e torna-se fator limitante na fase de enraizamento. Quando exerce uma ação negativa, o efeito residual pode ser resolvido com a introdução de uma fase intermediária de alongamento, em meio com concentrações reduzidas ou ausência de citocinina, para desintoxicar as culturas. A adição de carvão ativado ao meio de cultura também pode solucionar o problema, visto que esse coadjuvante possui a capacidade de reter concentrações excessivas de fitorreguladores.

Outros efeitos residuais atribuídos às citocininas têm sido observados nas plantas após o transplante como, por exemplo, menor capacidade de sobrevivência durante a aclimatização devido à vitrificação, quebra da dominância apical, manutenção de hábito arbustivo e miniaturização e de formação de frutos (Grattapaglia & Machado, 1998).

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG. Os explantes foram retirados de plantas já estabelecidas “in vitro”, separados sobre placas de petri e constituíram-se de segmentos nodais contendo um par de gemas, desprezando-se sempre a gema apical, inoculados verticalmente. Foram utilizados tubos de ensaio (25 x 150 mm) vedados com tampa plástica que receberam um volume de 15 ml de meio. Os meios de cultura tiveram seus pHs ajustados para 5,8 antes de serem autoclavados a 121°C e 1,2 atm por 20 minutos. Os meios foram solidificados com ágar 7,0 g.L<sup>-1</sup>. A inoculação foi realizada em câmaras de fluxo laminar e o material foi mantido em sala de crescimento à temperatura de 21 ± 1°C e fotoperíodo de 16 horas, sob 35 µM.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> de intensidade luminosa.

Plantas já estabelecidas “in vitro” da cultivar Caturra Amarelo foram pré-cultivadas em meio “MS” sem reguladores de crescimento e parte em meio MS acrescido de 6 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, por 60 dias. Após esse período foram instalados dois experimentos.

### **5.1 Efeito de concentrações de BAP no meio de subcultivo segmentos nodais de cafeeiro pré-cultivados em meio MS sem regulador de crescimento ou com adição de 6 mg.L<sup>-1</sup> de BAP**

Os explantes, provenientes de meio MS com e sem BAP, foram inoculados em meio de cultivo MS acrescido de BAP nas concentrações de 0, 6, 9, 12 e 15 mg.L<sup>-1</sup>, perfazendo 10 tratamentos em fatorial 2 x 5, com 4 repetições de 5 tubos cada.

## **5.2 Efeito de concentrações de TDZ no meio de subcultivo em segmentos nodais de cafeeiro pré-cultivados em meio MS sem regulador de crescimento ou com adição de 6 mg.L<sup>-1</sup> de BAP**

Os explantes, provenientes de meio MS com e sem BAP, foram inoculados em meio de cultivo MS acrescido de TDZ nas concentrações de 0; 0,05; 0,15; 0,45 e 1,35 mg.L<sup>-1</sup>, perfazendo 10 tratamentos em fatorial 2 x 5, com 4 repetições de 5 tubos cada.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado e após 120 dias avaliou-se: número total de brotações (NTB), número de brotações maiores que 1cm (NB>1cm), peso da matéria fresca das brotações (PMFB), e peso da matéria seca das brotações (PMSB). Utilizou-se o teste de Scott-Knott (1974) para a obtenção das análises comparativas de média.

## **6 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **6.1 Efeito de concentrações de BAP no meio de subcultivo em segmentos nodais de cafeeiro pré-cultivados em meio MS, sem regulador de crescimento ou com adição de 6 mg.L<sup>-1</sup> de BAP.**

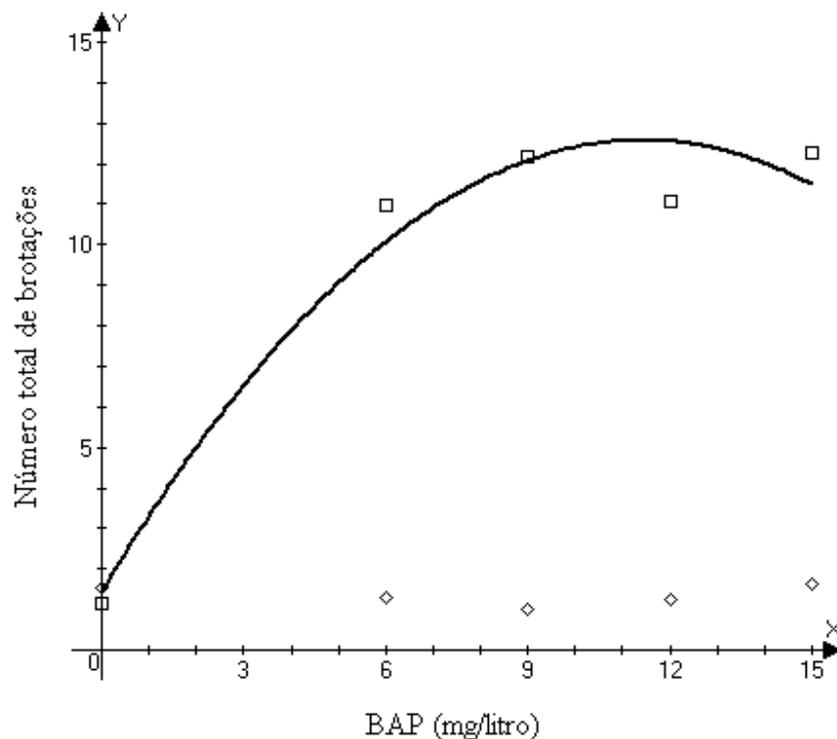
Os resumos das análises de variância estão apresentados na Tabela 12A. Observou-se diferença significativa, nas quatro variáveis, para a interação meio de pré-cultivo x BAP.

Para todas as variáveis estudadas não houve diferença entre os explantes pré-cultivados em meio MS sem regulador de crescimento ou com adição de BAP e posteriormente subcultivados para meio MS sem BAP (0 mg.L<sup>-1</sup>).

Quando os segmentos nodais foram pré-cultivados em meio MS sem BAP e posteriormente subcultivados para meio com BAP, não houve incremento em nenhuma das variáveis, sem diferença entre os tratamentos.

#### **6.1.1 Número total de brotações**

O melhor resultado observado foi de 12,58 brotações por explante obtido em meio de subcultivo com 11,42 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, após pré-cultivo dos explantes em meio MS adicionado de BAP (6 mg.L<sup>-1</sup>) (Figura 38).



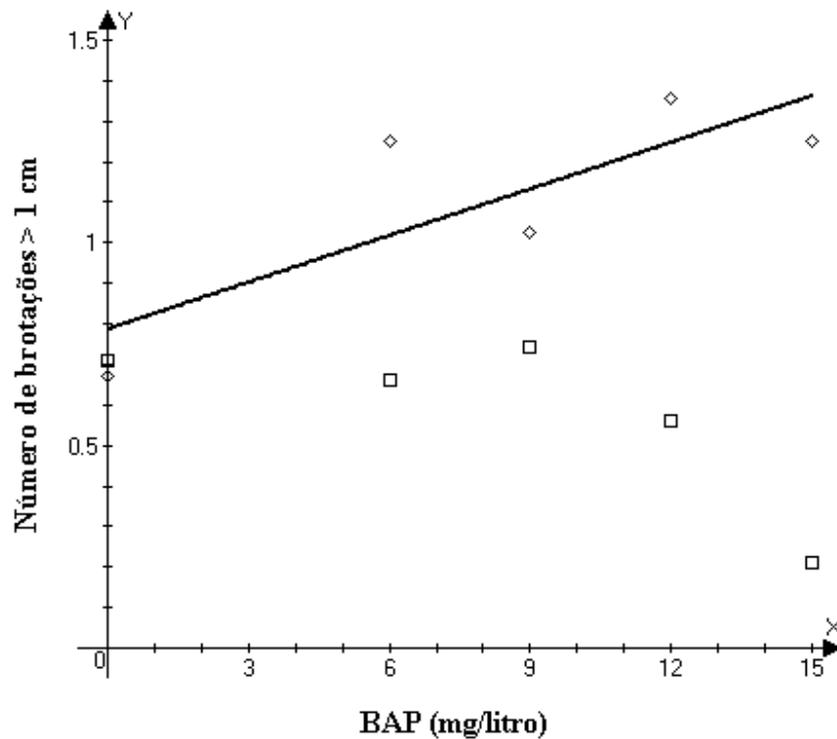
◇ = MS

= MS+BAP  $Y = 1,4486 + 1,9499 X - 0,00854 X^2$   $R^2 = 0,96$

**FIGURA 38** Número total de brotações em segmentos nodais de cafeeiro pré-cultivados em meio MS ou MS+BAP e subcultivados em meio com diferentes concentrações de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2003.

### 6.1.2 Número de brotações maiores que um centímetro

Para número de brotações maiores que um centímetro, houve resposta crescente até a concentração máxima de BAP no meio de subcultivo, em explantes pré-cultivados em meio MS adicionado de BAP, obtendo-se 1,36 broto maior que 1cm (Figura 39).

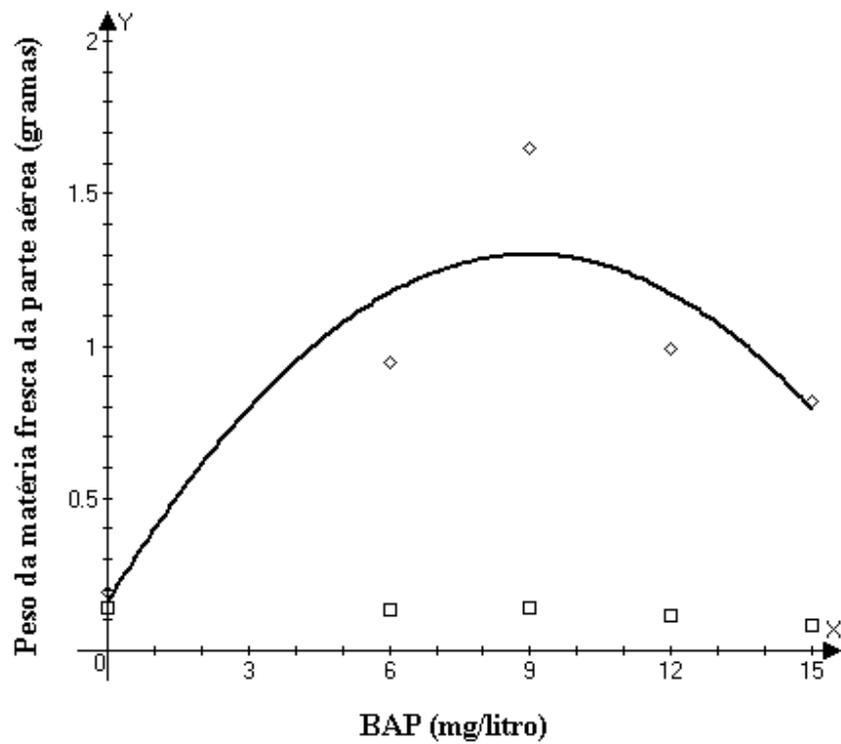


= MS  
 ◇ = MS+BAP  $Y = 0,788 + 0,0383 X$   $R^2 = 0,65$

**FIGURA 39** Número de brotações maiores que 1cm em segmentos nodais de cafeeiro pré-cultivados em meio MS ou MS+BAP e subcultivados em meio com diferentes concentrações de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2003.

### 6.1.3 Peso da matéria fresca das brotações

O maior valor peso da matéria fresca das brotações (1,30 gramas) foi obtido em meio de subcultivo com  $9,07 \text{ mg.L}^{-1}$  de BAP, após pré-cultivo dos explantes em meio MS adicionado de BAP ( $6 \text{ mg.L}^{-1}$ ) (Figura 40).

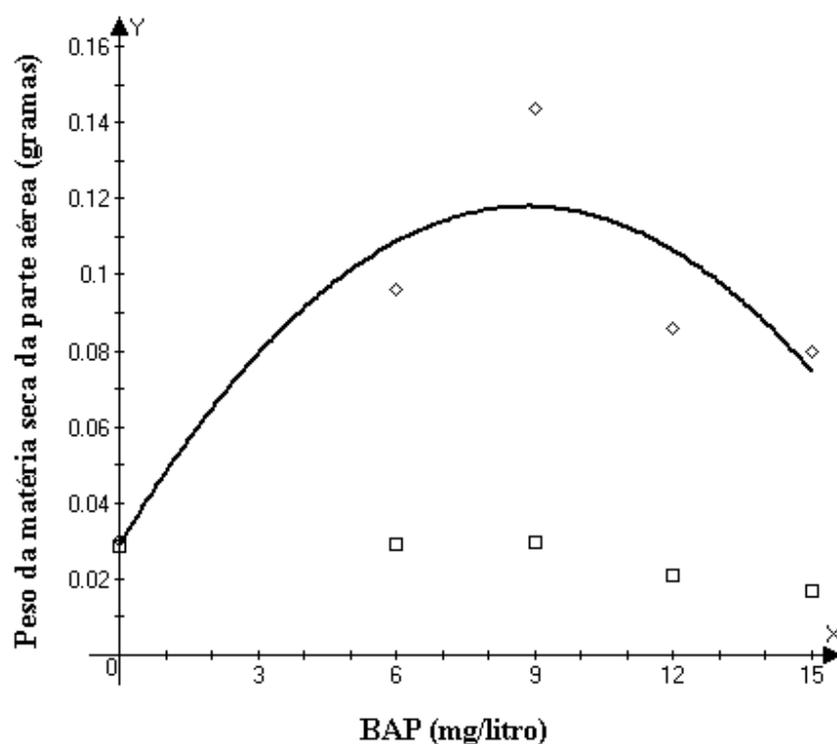


= MS  
 ◇ = MS+BAP  $Y = 0,1572 + 0,2546 X - 0,0142 X^2$   $R^2 = 0,81$

**FIGURA 40** Peso da matéria fresca de brotações em segmentos nodais de cafeeiro pré-cultivados em meio MS ou MS+BAP e subcultivados em meio com diferentes concentrações de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2003..

### 6.1.4 Peso da matéria seca das brotações

Tendência similar a PMFB foi observada para a PMSB, em que o maior valor (0,12 gramas) foi observado em meio de subcultivo com 9,14 mg.L<sup>-1</sup> de BAP após pré-cultivo dos explantes em meio MS adicionado de BAP (6 mg.L<sup>-1</sup>) (Figura 41).



= MS  
◇ = MS+BAP  $Y = -0,029 + 0,0201 X - 0,0011 X^2$   $R^2 = 0,81$

**FIGURA 41** Peso da matéria seca de brotações em segmentos nodais de cafeeiro pré-cultivados em meio MS ou MS+BAP e subcultivados em meio com diferentes concentrações de BAP. UFLA, Lavras, MG, 2003.

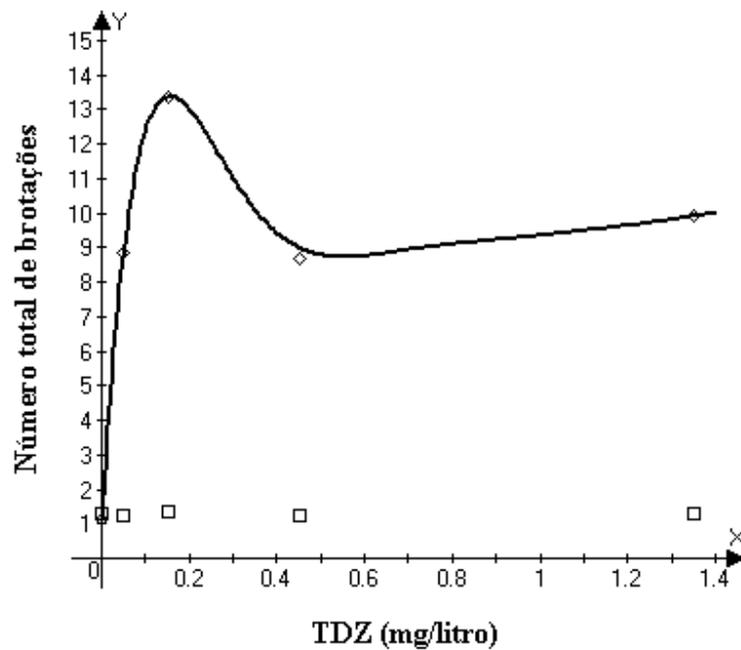
## **6.2 Efeito de concentrações de TDZ no meio de subcultivo em segmentos nodais de cafeeiro pré-cultivados em meio MS sem regulador de crescimento ou com adição de 6 mg.L<sup>-1</sup> de BAP.**

Os resumos das análises de variância estão apresentados na Tabela 13A. Observa-se que, para as características número total de brotos e peso da matéria fresca das brotações, houve efeito significativo da interação meio de pré-cultivo x TDZ. Para número de brotos maiores que um centímetro e peso da matéria seca das brotações, houve efeito significativo apenas para o meio de pré-cultivo.

Quando os segmentos nodais foram pré-cultivados em meio MS sem BAP e posteriormente subcultivados para meio com TDZ, não houve incremento em nenhuma das variáveis, sem diferença entre os tratamentos. Quando os explantes foram pré-cultivados em meio MS puro ou adicionado de BAP e posteriormente subcultivados para meio MS sem TDZ (0 mg.L<sup>-1</sup>), também não houve diferença em nenhuma das variáveis estudadas.

### 6.2.1 Número total de brotações

Maior número total de brotações (13,30) foi obtido com 0,15 mg.L<sup>-1</sup> de TDZ no meio de subcultivo, após pré-cultivo dos explantes em meio MS adicionado de BAP (Figura 42).



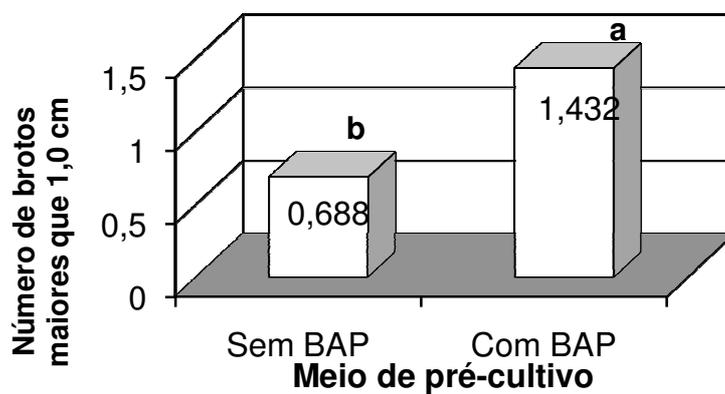
= MS

$$\diamond = \text{MS+BAP} \quad Y = 1,16069 - 97,7654X + 34,3839X^2 + 67,2161\sqrt{X} \quad R^2 = 0,99$$

**FIGURA 42** Número total de brotações de cafeeiro em segmentos nodais pré-cultivadas em meio MS ou MS+BAP e subcultivadas em meio com diferentes concentrações de TDZ. UFLA, Lavras, MG, 2003.

### 6.2.2 Número de brotações maiores que um centimetro

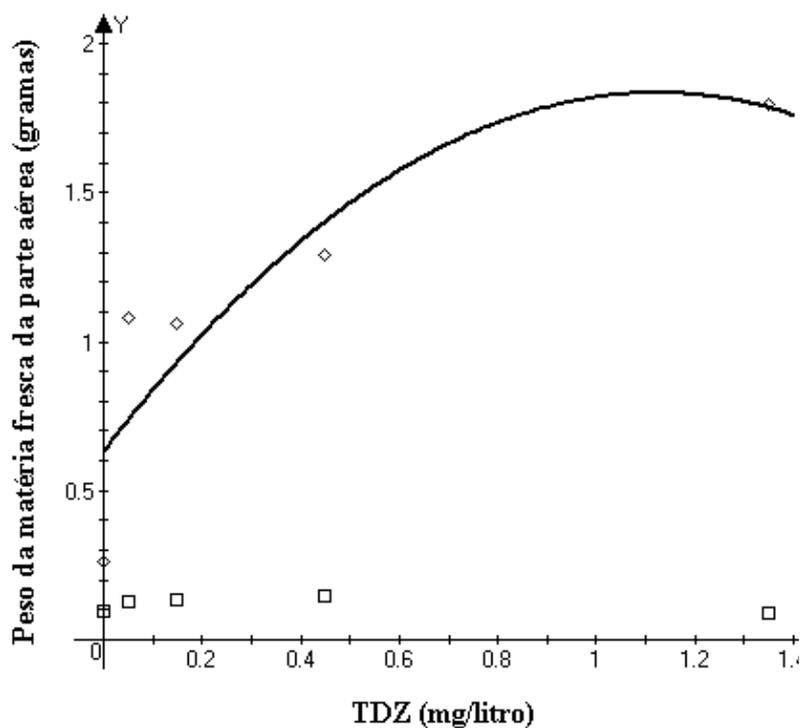
O meio de pré-cultivo MS adicionado de BAP (6 mg.L<sup>-1</sup>) proporcionou maior número de brotos maiores que um cm, como pode ser observado na Figura 43.



**FIGURA 43** Número de brotações maiores que 1 cm em segmentos nodais de cafeeiro subcultivados com diferentes concentrações de TDZ e pré-cultivados em meio MS ou MS+BAP (6 mg.L<sup>-1</sup>). UFLA, Lavras, MG, 2003.

### 6.2.3 Peso da matéria fresca das brotações

Maior peso da matéria fresca das brotações (1,78) foi obtido com a concentração máxima (1,35 mg.L-1) de TDZ (Figura 44).



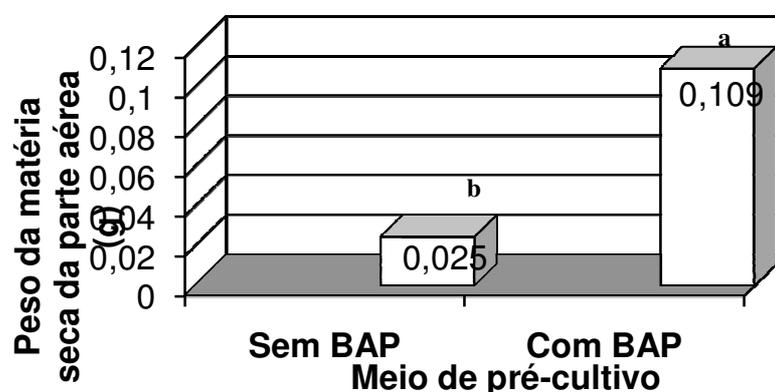
= MS

$$\diamond = \text{MS+BAP} \quad Y = 0,6333 + 2,1427 X - 0,9557 X^2 \quad R^2 = 0,77$$

**FIGURA 44** Peso da matéria fresca de brotações em segmentos nodais de cafeeiro pré-cultivados em meio MS ou MS+BAP e subcultivadas em meio com diferentes concentrações de TDZ. UFLA, Lavras, MG, 2003.

#### 6.2.4 Peso da matéria seca das brotações

Maiores valores para peso da matéria seca das brotações foram obtidos quando os segmentos nodais foram pré-cultivados em meio MS adicionado de BAP, como pode ser observado na Figura 45.



**FIGURA 45** Peso da matéria seca das brotações em segmentos nodais de cafeeiro subcultivados com diferentes concentrações de TDZ e pré-cultivados em meio MS ou MS+BAP ( $6 \text{ mg.L}^{-1}$ ). UFLA, Lavras, MG, 2003.

Após atingir um máximo, os valores observados das variáveis número total de brotações, peso da matéria fresca e seca das brotações no experimento com BAP no subcultivo, sofreram redução com o aumento das concentrações do regulador, provavelmente devido a um efeito fitotóxico desse regulador.

Embora a citocinina estimule maior produção de partes aéreas, o seu excesso é tóxico e caracteriza-se, principalmente, pela demasiada formação de brotações, falta de alongamento da planta, redução no tamanho das folhas, encurtamento dos entrenós, engrossamento exagerado dos caules e vitrificação generalizada, o que pode levar a sérios problemas na fase de enraizamento

(Lane, 1979; Leshen et al., 1988). Qi-guang et al. (1986) observaram que o excesso de BAP inibiu a brotação de gemas, reduziu drasticamente o número de partes aéreas por explante e promoveu a formação de calos em culturas de *Castanea mollissima*.

Esses resultados vêm corroborar o efeito benéfico do BAP para promover a multiplicação de partes aéreas e indução de gemas adventícias.

Custer et al. (1980), propagando *Coffea arabica* “in vitro” por meio de segmentos nodais, obtiveram 2,2 brotos/explante em meio MS acrescido de BAP 9,9 mg.L<sup>-1</sup> e AIA 0,1 mg.L<sup>-1</sup>. Os mesmos autores testando diversas citocininas, visando ao desenvolvimento de gemas axilares, obtiveram o melhor resultado após sete semanas de cultivo e BAP 10 mg.L<sup>-1</sup>, com média de 2,8 gemas/nó. O BAP foi a citocinina mais efetiva. Dublin (1991) também indica como melhor a concentração 10 mg.L<sup>-1</sup> de BAP no meio de cultivo.

Forni (1993) constatou aumento no número de brotos maiores que 1cm em *Coffea arabica* cv. Catuaí Vermelho CH 207-2-5-44, com o aumento das concentrações de BAP. Carvalho et al. (1996), em trabalho com *Coffea arabica* cv. Catuaí, verificaram aumento linear do número de brotos maiores que 1cm e até 7,59 mg.L<sup>-1</sup> de BAP no número total de brotos.

O TDZ possui capacidade para induzir brotações múltiplas em plantas (Bretagne et al., 1994 e Sanago et al., 1996), com diversos relatos sobre seus efeitos positivos na proliferação de brotações axilares (Eapen et al., 1998; Souza et al., 1998; Bragwat et al., 1996; Huetteman & Preece, 1993; Fellman et al., 1987; Nieuulker et al., 1986). Na maioria dos casos, o TDZ tem apresentado resultados superiores em relação a outras citocininas na indução e multiplicação de brotos de várias espécies. Porém, algumas anormalidades têm sido associadas ao seu uso “in vitro” (Lu, 1993), como brotos menores e menos vigorosos (Meyer & Van Staden, 1988).

Andrade (1998) utilizando TDZ para micropropagação de *Coffea arabica*, encontrou efeito desse regulador aumentando o número de brotos e número de brotos maiores que 1 cm, tendo como melhores concentrações acima de 0,90 mg.L<sup>-1</sup>.

A redução no valor das variáveis número total de brotações e peso da matéria fresca das brotações, no experimento com TDZ no subcultivo, após um máximo, pode ser devido a um efeito fitotóxico causado pelo regulador, associado ao efeito residual do BAP adicionado ao meio de pré-cultivo.

Pelos resultados obtidos, pode-se verificar que houve efeito residual do BAP adicionado ao meio de pré-cultivo. Em todas as variáveis analisadas houve incremento quando os explantes foram pré-cultivados em meio com BAP e posteriormente subcultivados para meio adicionado de BAP ou TDZ. Fica evidenciado também que somente o BAP residual, proveniente do meio de pré-cultivo, não é suficiente para uma resposta satisfatória dos explantes, tornando-se necessária a adição de reguladores de crescimento ao meio de subcultivo.

## 7 CONCLUSÕES

Há efeito residual do BAP adicionado ao meio de pré-cultivo, aumentando todas as variáveis estudadas.

A adição de BAP (9-10 mg.L<sup>-1</sup>) no meio de subcultivo aumenta o peso da matéria seca das brotações, o número total de brotações, número de brotações maiores que um centímetro e o peso da matéria fresca das brotações.

A adição de TDZ (0,15-1,35 mg.L<sup>-1</sup>) no meio de subcultivo incrementa o número total de brotações e o peso da matéria fresca das brotações.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, L. M. C. O. **Otimização de técnicas de cultura de tecidos para o cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 1998. 86 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ARDITTI, J. Niacin biosynthesis in germinating *Laeliocattya* orchid embryos and young seedlings. **American Journal of botany**, Columbus, v. 54, n. 3, p. 291-298, Mar. 1967.

BANDEL, G.; CARVALHO, F. J. P. C.; CROCOMO, O. J.; SHARP, W. R.; GUTIERREZ, L. E.; CARVALHO, P. C. T. Aspectos fisiológicos da diferenciação de tecidos de cafeeiros cultivados “in vitro”. **Anais da “Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz”**, Piracicaba, v. 32. p. 717-724, 1975.

BARROS, I.; PASQUAL, M. Ação de fitohormônios na indução e alongação de brotações micropropagadas de *Coffea arabica* L. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 15., 1989, Maringá. **Resumos....** Rio de Janeiro: MIC/IBC, 1989a. p. 186.

BARROS, I.; PASQUAL, M. Efeito da citocinina 6-BA na micropropagação de *Coffea arabica* L. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 15., 1989, Maringá. **Resumos...** Rio de Janeiro: MIC/IBC, 1989b. p. 56-57.

BARROS, I.; PASQUAL, M. Efeito de citocinina e giberilina no cultivo "in vitro" de segmentos nodais de *Coffea arabica* cv. Catuaí. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 16., 1990, Espírito Santo do Pinhal. **Resumos...** Rio de Janeiro: MIC/IBC, 1990. p. 11.

BERTHOULY, M.; ECHEVERRY, J. H. Multiplicación asexual de diferentes líneas de catimores: indución "in vitro" de yemas axilares latentes. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE TECNOLOGIA CAFEEIRA, 1., 1987, Campinas. **Resumos...** Rio de Janeiro: MIC/IBC, 1987. p. 279-283.

BRAGWAT, B.; VIEIRA, L. G. E.; ERICKSON, L. R. Stimulation of *in vitro* shoot proliferation from nodal explants of cassava by thidiazuron, benzyladenine and gibberellic acid. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Oxford, v. 46, n. 1, p. 1-7, July 1996.

- BRETAGNE, B.; CHUPEAU, M. C.; CHUPEAU, Y.; FOUILLOUX, G. Improved flax regeneration from hypocotyls using thidiazuron as a cytokinin source. **Plant Cell Reports**, New York, v. 14, n. 2/3, p. 120-24, Dec. 1994.
- CALDAS, L. S.; HARISADAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Ed.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPQ, 1990. p. 37-70.
- CAMBRONY, H. D.; SNOECK, J. Hormones et regulateurs de croissance dans les cultures de caféiers et de cacaoyers. **Café, Cacao, Thé**, Paris, v. 27, n. 2, p. 113-9, avr./juin. 1983.
- CAPELLE, S. C.; MOK, D. W. S.; KIRCHNER, S. C.; MOK, M. C. Effects of thidiazuron on cytokinin autonomy and the metabolism of N<sup>6</sup>-( $\Delta^2$ -isopentenyl) [8<sup>14</sup>-C] adenosine in callus tissue of *Phaseolus lunatus* L. **Plant Physiology**, Rockville, v. 73, n. 3, p. 796-802, Nov. 1983.
- CARVALHO, G. R.; PASQUAL, M.; ANTUNES, L. E. C.; SILVA, A. T. da; SCARANTE, M. J. Influência do benomyl e benzilaminopurina sobre a proliferação "in vitro" do café cv. Catuaí. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 43, n. 248, p. 402-408, jul./ago. 1996.
- CROCOMO, O. J.; GONÇALVES, A. N.; CABRAL, J. B. Clonagem e melhoramento de plantas "in vitro". In: SIMPOSIO NACIONAL DE CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS/EMBRAPA, 1., 1985, Brasília. **Anais...** Brasília, 1985. p. 39-43.
- CUSTER, J. B. M.; VAN E. G.; BUIJS, L. C. Clonal propagation of *Coffea arabica* by nodal culture. In: INTERNATIONAL SCIENCE COLLOQUIUM ON COFFEE, 9., 1980, London. **Annals...** Paris: ASIC, 1980. v. 2, p. 586-96.
- DE PENA, M. Somatic embryo induction and plant regeneration from *Coffea canephora* and *Coffea arabica*. In: SIMPÓSIO SOBRE FERRUGENS DO CAFEEIRO, 1983, Oeiras, Portugal. **Proceedings....** Oeiras, Portugal: CIFIC, 1983. p. 493-512.
- DUBLIN, P. Multiplicación vegetativa de café, hevea e cacao. In: ROCA, N. M.; MROGINSKI, L. A. (Ed.). **Cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos e aplicaciones**. Turrialba, 1991. p. 612-42.
- DUBLIN, P. Multiplication vegetative "in vitro" de L'arabusta. **Caffé, Cacao, Thé**, Paris, v. 24, n. 4, p. 281-290, oct./dec. 1980.

- EAPEN, S.; SUCHITA, T.; GEORGE, L. Thidiazuron-induced shoot regeneration in pigeonpea (*Cajanus cajan* L.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 53, n. 2, p. 217-20, 1998.
- FELLMAN, C. D.; READ, P. E.; HOSIER, N. A. Effects of thidiazuron and CPPU on meristem formation and shoot proliferation. **HortScience**, Alexandria, v. 22, n. 6, p. 1197-200, Dec. 1987.
- FORNI, R. C. **Níveis de “MS”, BAP, número de gemas do explantes e período de repicagem na produção de brotos, folhas e matéria seca e, níveis de 2,4-D e cinetina para tamanho e fenótipo dos calos de *Coffea arabica* L. cv. Catuaí Vermelho CH 207-2-5-44.** 1993. 81 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, MG.
- GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture.** part 1. the technology. 2. ed. Edington: Exegetics, 1993. 574 p.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília: EMBRAPA/ CNPH, 1998. p. 183-260.
- HERMAN, E. B.; HAAS, G. J. Clonal propagation of *coffea arabica* L. from callus culture. **Hortscience**, Alexandria, v. 10, n. 6, p. 588-589, Dec. 1975.
- HU, C. Y.; WANG, P. J. Meristem, shoot tip and bud culture. In: Evans, D. A.; SHARP, W. R.; AMMIRATO, P. V.; YAMADA, Y. (Ed.). **Handbook of plant cell culture: techniques of propagation and breeding.** New York: Macmillanp, 1983. p. 117-227.
- HUETTEMAN, C. A.; PREECE, J. E. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 33, n. 2, p. 105-19, May 1993.
- INNECO, R. **Propagação vegetativa de pimentão (*Capsidium annum* L) através de método in vitro e estacas.** 1993. 105 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- KRASNYANSKI, S.; POLGÁR, Z.; NÉMETH, G.; MENEZEL, L. Plant regeneration for callus and protoplast of *Heliantus giganteus* L. **Plant Cell Reports**, New York, v. 11, n. 1, p. 1-10, Feb. 1992.

KRIKORIAN, A. D.; KELLY, K.; SMITH, D. L. Hormones in tissue culture and micropropagation. In: DAVIES, P. J. (Ed.). **Plant hormones and their role in plant growth and development**. New York, 1987. p. 593-613.

LANE, W. D. Regeneration of pear plants from shoot meristem-tips. **Plant Science Letters**, Clare, v. 16, n. 2/3, p. 337-42, 1979.

LESHEN, B.; WERKER, E.; SHALEV, D. P. The effect of cytokinins on vitrification in melon and carnation. **Annals of Botany**, London, v. 62, n. 3, p. 271-276, Sept. 1988.

LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Combined Proceedings International Plant Propagators Society**, v.30, p.421-427, 1980.

LU, C. Y. The use of thidiazuron in tissue culture. **In Vitro Cell. Development Biology**, Marlboro, v. 29, n. 2, p. 92-96, Apr. 1993.

MACIEL, A. L. R. **Embriogênese somática indireta em *coffea arabica* L.** 2001. 60 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MEDINA FILHO, H.P.; CARVALHO, A.; SONDAHL, M.R.; FAZUOLI, L.C.; COSTA, W.M. Coffee breeding and related aspects. In: JANICK, J. **Plant Breeding Reviews**. Westport, Connecticut, 1983, p.157-94.

MEYER, H. J.; VAN STADEN, J. *In vitro* multiplication of *Ixia flexuosa*. **HortScience**, Alexandria, v. 23, n. 6, p. 1070-1071, Dec. 1988.

MOK, M. C.; MOK, D. W. S.; TURNER, J. G.; MUJER, C. V. Biological and biochemical effects of cytokinin- active phenylurea derivatives in tissue culture systems, **HortScience**, Alexandria, v. 22 n. 6, p. 119-1197, Dec.1987.

MONACO, L. C.; SONDAH, M. R.; CARVALHO, CROCONO, A. J.; SHARP, W. R. Applications of tissue culture in the improvement of *Coffea*. In: REINERT, J.; BAJAJ, Y. P. S. **Applied and Fundamental Aspects of plant cell, tissue and organ culture**. Berlin: Springer-Verlag, 1997. p. 109-129.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-97, 1962.

NAKAMURA, T.; SONDAHL, M. R. Micropropagação de cafeeiros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 10., 1983, Poços de Caldas. **Resumos....** Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1983. p. 116-117.

NAKAMURA, T.; SONDAHL, M. R. Multiplicação "in vitro" de gemas ortotrópicas em *Coffea* spp. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 9., 1981, São Lourenço. **Anais...** Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1981. p. 162-163.

NIEUWKERK, J. P. Van; ZIMMERMAM, R. H.; FORDHAM, I. Thidiazuron stimulation of apple shoot proliferation *in vitro*. **HortScience**, Alexandria, v. 21, n. 3, p. 516-518, June 1986.

OWUOR, J. B. O. *In vitro* initiation of arabusta coffee hybrids. **Kenya Coffee**, Nairobi, v. 52, n. 605, p. 59-62, mar. 1987.

PALÚ, E. G. Indução *in vitro* de calogênese em anteras e brotações em segmentos nodais de *Coffea arabica* L. 2002. 47 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PASQUAL, M. **Meios de cultura**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 74 p.

PASQUAL, M.; BARROS, I. Efeito de benzilaminopurina e ácido naftaleno acético na proliferação e alongação de brotações micropropagadas em *Coffea arabica* L. "*in vitro*". **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 2, p. 201-204, fev. 1991.

PIERSON, E. S.; VAN LAMMEREN, A. A. M.; SCHEL, J. H.; STARITSKY, G. In vitro development of embryoids from punched leaf disc of *Coffea canephora*. **Protoplasma**, vienna, v. 115, n. 2/3, p. 208-216, 1983.

QI-GUANG, Y.; READ, P. E.; FELLMAN, C. D.; HOSIER, M. A. Effect of cytokinin, IBA and rooting regime on chinese chesnut cultured *in vitro*. **HortScience**, Alexandria, v. 21, n. 1, p. 133-134, Feb. 1986.

RAGHURAMULU, Y. Anther and endosperm culture of *coffee*. **Journal of Research**, Washington, v. 19, n. 2, p. 71-81, Feb. 1989.

RIBEIRO, L. de S. **Cultura "in vitro" de embriões e segmentos nodais do cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2001. 73 p. (Dissertação-Mestrado em Fototecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SANAGO, M. H. M.; SHATTUCK, V. I.; STROMER, J. Rapid plant regeneração of pea using thidiazuron. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterda, v. 45, n. 2, p. 165-168, May 1996.

SONDAHL, M. R.; LOH, W. H. T. Coffee Biotechnology. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. Coffe. **London Agronomy**, New York, v. 4, p. 235-264, 1987.

SONDAHL, M. R.; MONACO, L. C.; SHARP, W. R. "In vitro" methods applied to coffe. In: THORPE, T. A. (Ed.). **Plant culture: methods and applications in agriculture**. New York: Academic Press, 1981. p. 325-347.

SONDAHL, M. R.; NAKAMURA, T. Propagação vegetativa "in vitro" de *Coffea sp.* In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 8., 1980, Campos do Jordão. **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC, 1980. p. 129.

SONDAHL, M. R.; NAKAMURA, T.; MEDINA FILHO, H. P.; CARVALHO, A.; FAZOULI, L. C.; COSTA, W. R. Coffee. In: AMMYRATO e McMILLEN, (Ed). **Handbook of plant cell culture**. New York, 1984. p. 564-590.

SONDAHL, M. R.; SHARP, W. R. High frequency induction of somatic embryos in culture leaf explante of *Coffea arabica* L. **Zeitschirif fuer pflanzen physiologie**, Zurik, v. 82, n. 4, p. 395-408, 1997.

SOUZA, C. M. de S.; PINTO, J. E. B. P.; RODRIGUES, B. M.; FURTADO, D. F.; MORAIS, A. R. de.; ARRIGONI-BLANK, M. de F. Efeito do thidiazuron na multiplicação de repolho "in vitro". **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 22, n. 1, p. 52-56, jan./mar. 1998.

STARITSKY, G. Embryoid formation in callus tissue of coffe. **Acta Botanica Neeriandica**, Oxon, v. 19, n. 4, p. 509-514, Aug. 1970.

THORPE, A. T.; PATEL, K. R. Clonal propagation: Adventitious Buds. In: VASIL, I. K. (Ed.). **Cell culture and somatic cell genetics of plants**, Orlando, 1984. p. 49-60.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPQ, 1998. 864 p.

WHITE, P. R. **A handbook of plant tissue culture**. Lancaster, Pensylnaia: Costel e Company, 1943. 273 p.

ZARR, J. B.; MAPES, M. O. Action of growth regulators. In: BONGA, J. M.; DURZAN, D. J. **Tissue culture in forestry**. 2. ed. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1985. p. 231-255.

## **ANEXOS**

## LISTA DE ANEXOS

Anexos A		Página
TABELA1	Resumo da análise de deviance para a variável porcentagem de estacas calejadas aos 45 dias de cafeeiros 'Acaiá' e 'Rubi'. UFLA, Lavras, MG, 2003....	164
TABELA 2	Resumo das análises de deviance para a variável porcentagem de estacas enraizadas aos 90 dias de cafeeiros 'Acaiá' e 'Rubi'. UFLA, Lavras, MG, 2003....	164
TABELA 3	Resumo das análises de deviance para a variável porcentagem de estacas enraizadas total, aos 180 dias, de cafeeiros 'Acaiá' e 'Rubi'. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	165
TABELA 4	Resumo das análises de variância para a variável número de mudas formadas. Dados não transformados para a 'Acaiá' e transformados para $\log(x+1)$ para 'Rubi'. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	165
TABELA 5	Resumo das análises do desvio de deviance para a variável porcentagem de estacas vivas, aos 90 dias, de cafeeiros 'Acaiá' e 'Rubi'. UFLA, Lavras, MG, 2003....	166
TABELA 6	Resumo das análises de variância para a variável número de raízes por muda. Dados não transformados para 'Acaiá' e transformados para $\log(x+1)$ para 'Rubi'. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	166
TABELA 7	Resumo das análises de variância para a variável Peso da matéria seca das raízes das mudas formadas. Dados não transformados para 'Acaiá' e transformados para $\log(x+1)$ para a 'Rubi'. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	167

TABELA 8	Resumo das análises de variância para a variável peso da matéria seca da parte aérea, das mudas formadas. Dados não transformados para ‘Acaiá’ e transformados para $\log(x+1)$ para a ‘Rubi’. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	167
TABELA 9	Quadro de análise de variância para a variável relação PMSR/PMSPA das mudas formadas. Dados não transformados para ‘Acaiá’ e transformados para $\log(x+1)$ para a ‘Rubi’. UFLA, Lavras, MG, 2003.....	168
TABELA 10	Resumo das análises de variância para as características número de feixes vasculares, espessura do cilindro vascular, espessura do córtex e espessura da epiderme. UFLA. Lavras, MG, 2003.....	168
TABELA 11	Medidas de comprimento de raiz, em metros, para raízes com diâmetros de 0 a 2 mm, de 2 a 4 mm e maiores do que 4 mm; comprimento total do sistema radicular; porcentagem do comprimento total raízes com diâmetro de 0 a 2 mm e porcentagem do comprimento total de raízes com diâmetro maior do que 2 mm, observados em mudas de cafeeiros ‘Acaiá’ e ‘Rubi’. UFLA. Lavras, MG, 2003.....	169
TABELA 12	Resumo das análises de variância para as características número total de brotações (NBT), número de brotações maior que 1cm (NB > 1,0 cm), peso da matéria fresca das brotações (PMFB)e peso da matéria seca das brotações (PMSB) para o subcultivo com BAP. UFLA. Lavras, MG, 2003.....	169
TABELA 13	Resumo das análises de variância para as características número total de brotações (NTB), número de brotações maior que 1cm (NB > 1,0 cm), peso da matéria fresca das brotações (PMFB), peso da matéria seca das brotações (PMSB) para o subcultivo com TDZ. UFLA. Lavras, MG, 2003.....	170

TABELA 1A Resumo das análises de deviance para a variável porcentagem de estacas calejadas aos 45 dias de cafeeiros ‘Acaiá’ e ‘Rubi’. UFLA, Lavras - MG, 2003.

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	DEVIANCE	
		‘Acaiá’	‘Rubi’
Aquecimento basal	1	0,0003	0,0304
Sacarose	1	0,0033	0,0031
AIB	5	189,0031**	31,4051**
Aquecimento basal x sacarose	1	0,0001	0,0140
Aquecimento basal x AIB	5	6,8853	18,2584**
Sacarose x AIB	5	13,2748*	24,7191**
Aquecimento basal x sacarose x AIB	5	29,9633**	20,2601**
Resíduo	48	24,7926	20,5329
Probabilidade de ajuste do modelo		P=0,997	P=0,998

\*, \*\*, Significativo ao nível de 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

TABELA 2A Resumo das análises de deviance para a variável porcentagem de estacas enraizadas aos 90 dias de cafeeiros ‘Acaiá’ e ‘Rubi’. UFLA, Lavras -MG, 2003.

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	DEVIANCE	
		‘Acaiá’	‘Rubi’
Aquecimento basal	1	159,6789**	27,2964**
Sacarose	1	0,0016	0,0002
AIB	5	64,0026**	88,6852**
Aquecimento basal x sacarose	1	0,0020	2,8089
Aquecimento basal x AIB	5	32,8102**	20,3833**
Sacarose x AIB	5	24,9401**	10,7499
Aquecimento basal x sacarose x AIB	5	12,2597*	13,2894**
Resíduo	48	17,954	14,2249
Probabilidade de ajuste do modelo		P=0,997	P=0,999

\*, \*\*, Significativo ao nível de 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

TABELA 3A Resumo das análises de deviance para a variável porcentagem de estacas enraizadas total, aos 180 dias, de cafeeiros ‘Acaiá’ e ‘Rubi’. UFLA, Lavras, MG, 2003.

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	DEVIANCE	
		‘Acaiá’	‘Rubi’
Aquecimento basal	1	7,9504**	2,2049
Sacarose	1	0,0000	23,1549**
AIB	5	42,0124**	70,9145**
Aquecimento basal x sacarose	1	2,3536	2,2807
Aquecimento basal x AIB	5	5,8603	10,4127
Sacarose x AIB	5	9,3616	6,3870
Aquecimento basal x sacarose x AIB	5	26,0948**	9,1920
Resíduo	48	38,801	18,300
Probabilidade de ajuste do modelo		P=0,825	P=0,999

\*, \*\*, Significativo ao nível de 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

TABELA 4A Resumo das análises de variância para a variável número de mudas formadas. Dados não transformados para a ‘Acaiá’ e transformados para log (x+1) para ‘Rubi’. UFLA, Lavras, MG, 2003.

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADO MÉDIO	
		‘Acaiá’	‘Rubi’
Aquecimento basal	1	215,5697**	0,625844**
Sacarose	1	19,044735**	0,357299**
AIB	5	19,666179**	0,452305**
Aquecimento basal x sacarose	1	6,142513**	0,19375
Aquecimento basal x AIB	5	7,17173**	0,117126**
Sacarose x AIB	5	3,308735**	0,030381**
Aquecimento basal x sacarose x AIB	5	2,753846**	0,072139**
Resíduo	48	0,56944	0,04861
Total	71		
CV (%)		16,03	11,88

\*, \*\*, Significativo ao nível de 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

TABELA 5A Resumo das análises do desvio de deviance para a variável porcentagem de estacas vivas, aos 90 dias, de cafeeiros ‘Acaia’ e ‘Rubi’. UFLA, Lavras, MG, 2003.

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	DEVIANCE	
		‘Acaia’	‘Rubi’
Aquecimento basal	1	16,6996**	35,1980**
Sacarose	1	0,5210	35,7827**
AIB	5	11,4726*	36,0395**
Aquecimento basal x sacarose	1	1,6033	0,1294
Aquecimento basal x AIB	5	7,0113	27,1690**
Sacarose x AIB	5	9,6732	13,6394*
Aquecimento basal x sacarose x AIB	5	14,6374*	17,1970**
Resíduo	48		
Probabilidade de ajuste do modelo		P= 0,997	P= 0,999

\*, \*\*, Significativo ao nível de 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

TABELA 6A Resumo das análises de variância para a variável número de raízes por muda. Dados não transformados para ‘Acaia’ e transformados para log (x+1) para a ‘Rubi’. UFLA, Lavras, MG, 2003.

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADO MÉDIO	
		‘Acaia’	‘Rubi’
Aquecimento basal	1	10,6591**	0,022649*
Sacarose	1	4,6254*	0,004592
AIB	5	53,0117**	0,792224**
Aquecimento basal x sacarose	1	18,6080**	0,00001
Aquecimento basal x AIB	5	50,3330**	0,195089**
Sacarose x AIB	5	12,0560**	0,034223**
Aquecimento basal x sacarose x AIB	5	1,8569	0,035270**
Resíduo	48	1,113692	0,004627
Total	71		
CV (%)		15,80	8,53

\*, \*\*, Significativo ao nível de 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

TABELA 7A Resumo das análises de variância para a variável peso da matéria seca das raízes, das mudas formadas. Dados não transformados para 'Acaiá' e transformados para  $\log(x+1)$  para a 'Rubi'. UFLA, Lavras, MG, 2003.

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADO MÉDIO	
		'Acaiá'	'Rubi'
Aquecimento basal	1	0,119650*	0,003054
Sacarose	1	0,022582	0,001177
AIB	5	0,322128**	0,024555**
Aquecimento basal x sacarose	1	0,108353*	0,000216
Aquecimento basal x AIB	5	0,233085**	0,015354**
Sacarose x AIB	5	0,064469*	0,002890
Aquecimento basal x sacarose x AIB	5	0,055306*	0,003260
Resíduo	48	0,021716	0,001672
Total	71		
CV (%)		33,57	28,96

\*, \*\*, Significativo ao nível de 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

TABELA 8A Resumo das análises de variância para a variável peso da matéria seca da parte aérea das mudas formadas. Dados não transformados para 'Acaiá' e transformados para  $\log(x+1)$  para a 'Rubi'. UFLA, Lavras, MG, 2003.

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADO MÉDIO	
		'Acaiá'	'Rubi'
Aquecimento basal	1	3,442819**	0,020201**
Sacarose	1	0,432063*	0,001251
AIB	5	1,584520**	0,069853**
Aquecimento basal x sacarose	1	0,785652**	0,007219
Aquecimento basal x AIB	5	1,561619**	0,053933**
Sacarose x AIB	5	0,130621	0,002407
Aquecimento basal x sacarose x AIB	5	0,098951	0,004319
Resíduo	48	0,102122	0,002572
Total	71		
CV (%)		35,14	21,59

\*, \*\*, Significativo ao nível de 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

TABELA 9A Resumo das análises de variância para a variável relação PMSR/PMSPA das mudas formadas. Dados não transformados para 'Acaiá' e transformados para log (x+1) para a 'Rubi'. UFLA, Lavras, MG, 2003.

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADO MÉDIO	
		'Acaiá'	'Rubi'
Aquecimento basal	1	1,155327**	0,041168**
Sacarose	1	0,006015	0,000077
AIB	5	0,133086**	0,019527**
Aquecimento basal x sacarose	1	0,015579	0,004610
Aquecimento basal x AIB	5	0,072237**	0,013885**
Sacarose x AIB	5	0,082936**	0,002714
Aquecimento basal x sacarose x AIB	5	0,027884**	0,002735
Resíduo	48	0,008248	0,001238
Total	71		
CV (%)		20,05	20,59

\*, \*\*, Significativo ao nível de 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

TABELA 10A Resumo das análises de variância para as características número de feixes vasculares, espessura do cilindro vascular, espessura do córtex e espessura da epiderme. UFLA. Lavras, MG, 2003.

Fontes de variação	G.L	Número de feixes vasculares	QUADRADO MÉDIO		
			Espessura do cilindro vascular	Espessura do córtex	Espessura da epiderme
Mudas	3	0,013091*	14777,6728**	6646,98635	0,003117
Repetição	5	0,001400	4948,715854	11918,37820	0,002438
Resíduo	15	0,002460	1581,167465	5180,6865	0,003477
Total	23				
CV(%)		6,13	15,22	17,88	4,17

\*, \*\*, Significativo ao nível de 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

TABELA 11A Medidas de comprimento de raiz, em metros, para raízes com diâmetros de 0 a 2 mm, de 2 a 4 mm e maiores do que 4 mm; comprimento total do sistema radicular; porcentagem do comprimento total raízes com diâmetro de 0 a 2 mm e porcentagem do comprimento total de raízes com diâmetro maior do que 2 mm, observados em mudas de cafeeiros ‘Acaiá’ e ‘Rubi’. UFLA. Lavras, MG, 2003.

Tipo de muda	Comprimento de raiz (m) para diversos diâmetros de raiz			Comprimento total (m)	% do comprimento total em função do Ø da raiz	
	Ø 0-2mm	Ø 2-4mm	Ø >4mm		% 0-2mm	% >2mm
Acaiá semente	24,67012	0,140142	0	24,81026	99,4351	0,564856
Acaiá semente	21,78977	0,235275	0,000127	22,02518	98,9312	1,068786
Acaiá semente	25,61096	0,138343	0	25,74930	99,4627	0,537268
Acaiá estaca	51,03908	0,278805	0,171440	51,48932	99,1256	0,874443
Acaiá estaca	51,03595	0,121628	0,106402	51,26398	99,5552	0,444815
Acaiá estaca	49,07735	0,576302	0	49,65365	98,8394	1,160645
rubi semente	34,28041	0,104510	0,107640	34,49256	99,3849	0,615061
rubi semente	35,55734	0,101617	0,047993	35,70695	99,5810	0,418992
rubi semente	38,13074	0,000434	0,101951	38,23312	99,7322	0,267791
rubi estaca	53,05059	0,148066	0	53,19866	99,7217	0,278327
rubi estaca	45,78683	0,696862	0,089174	46,57287	98,3122	1,687755
rubi estaca	49,85705	0,404384	0,122991	50,38442	98,9533	1,046701

TABELA 12A Resumo das análises de variância para as características número total de brotações (NBT), número de brotações maior que 1cm (NB > 1,0 cm), peso da matéria fresca das brotações (PMFB) e peso das brotações (PMSB) para o subcultivo com BAP. UFLA. Lavras, MG, 2003.

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	NTB	QUADRADO MÉDIO		
			NB >1,0 cm	PMFB	PMSB
Meio Pré-cultivo	1	670,62505 **	2,83551**	6,34054**	0,03876**
BAP	4	42,58041 **	0,12755	0,54615**	0,00353**
Meio Pré-cultivo x BAP	4	46,33348 **	0,35612*	0,53288**	0,00320**
Resíduo	30	3,53431	0,11982	0,03350	0,00026
Total	39				
CV(%)		34,0	41,0	35,0	28,78

\*, \*\*, Significativo ao nível de 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

TABELA 13A Resumo das análises de variância para as características número total de brotações (NTB), número de brotações maior que 1cm (NB > 1,0 cm), peso da matéria fresca das brotações (PMFB), peso da matéria seca das brotações (PMSB) para o subcultivo com TDZ. UFLA. Lavras, MG, 2003.

FONTES DE VARIACÃO	GL	NTB	QUADRADO MÉDIO		
			NB > 1,0 cm	PMFB	PMSB
Meio Pré-cultivo	1	505,52100 **	5,55025**	9,58852**	0,07144**
TDZ	4	40,32610 **	0,20582	0,61524**	0,00127
Meio Pré-cultivo x TDZ	4	39,65627 **	0,53287	0,60553**	0,00162
Resíduo	30	3,90200	0,26907	0,08048	0,00085
Total	39				
CV(%)		40,72	48,9	46,5	43,6

\*, \*\*, Significativo ao nível de 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

## **APÊNDICE**

## APÊNDICE

**APÊNDICE 1** Quadro de médias para as variáveis que apresentaram interação tripla: aquecimento basal x sacarose x AIB. UFLA, Lavras, MG, 2003.

Aquec. basal	Sacarose	AIB	Número de mudas formadas		Número de raízes por muda	Peso da matéria seca (g) das raízes	PMSR/PMSPA
			Cultivares		Cultivar	Cultivar	Cultivar
			Acaiá	Rubi*	Rubi*	Acaiá	Acaiá
0	0	0	5,333333	0,634363	0,645839	0,291967	0,544367
0	0	2000	7,666667	0,774073	0,911999	0,408767	0,616967
0	0	4000	7,333333	0,774073	0,842282	0,387500	0,550467
0	0	6000	8,333333	0,883759	0,856985	0,462553	0,615600
0	0	8000	7,333333	0,651414	0,853183	0,445133	0,559767
0	0	10000	4,666667	0,883759	0,830717	0,266833	0,557767
0	1	0	5,000000	0,359727	0,460070	0,417400	0,517400
0	1	2000	4,666667	0,634363	0,888784	0,314767	0,445500
0	1	4000	6,666667	0,477121	0,883193	0,412000	0,600467
0	1	6000	7,000000	0,859164	0,816132	0,504600	0,756167
0	1	8000	7,666667	0,751757	0,830309	0,363667	0,530700
0	1	10000	7,000000	0,477121	0,926070	0,503300	0,661533
1	0	0	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
1	0	2000	2,666667	0,418424	1,047828	0,513167	0,525000
1	0	4000	3,666667	0,477121	0,804991	0,745133	0,379800
1	0	6000	4,333333	0,725364	0,882949	0,553333	0,386200
1	0	8000	5,333333	0,800467	0,979591	0,732267	0,371733
1	0	10000	6,000000	0,864429	1,007699	0,673533	0,438633
1	1	0	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
1	1	2000	0,000000	0,477121	0,919574	0,000000	0,000000
1	1	4000	2,333333	0,359727	1,145758	0,503667	0,390767
1	1	6000	3,000000	0,725364	0,882510	0,572433	0,428333
1	1	8000	3,000000	0,359727	0,832770	0,952567	0,576467
1	1	10000	4,000000	0,715376	0,851340	0,510733	0,419600

\* Dados transformados: Log (x+1)

**APÊNDICE 2** Quadro de médias para a variável número de raízes por muda para a cultivar Acaiá. UFLA, Lavras, MG, 2003.

AIB	Sacarose		Aquecimento basal	
	Com	Sem	Com	Sem
0	3,7666670	3,2666670	7,0333330	0,0000000
2000	3,3083330	7,1160000	7,4243330	3,0000000
4000	5,4293330	7,3270000	6,1175000	6,6388330
6000	7,6031670	7,2820000	7,2768330	7,6083330
8000	10,2013330	8,4183330	7,9196670	10,7000000
10000	8,2390000	8,1793330	6,6055000	9,8128330

**APÊNDICE 3** Quadro de médias para a variável peso da matéria seca em (g) da parte aérea para a cultivar Acaiá. UFLA, Lavras, MG, 2003.

AIB	Aquecimento basal	
	Com	Sem
0	0,0000000	0,7008670
2000	0,4803000	0,6896000
4000	1,6564170	0,6872830
6000	1,4063000	0,7055500
8000	1,8300170	0,7443170
10000	1,3959170	0,6172300

**APÊNDICE 4** Quadro de médias para as variáveis PMSR/PMSPA, peso da matéria seca da raiz e peso da matéria seca da parte aérea para a cultivar Rubi. UFLA, Lavras, MG, 2003.

AIB	PMSR/PMSPA		Peso da matéria seca (g) da raiz		Peso da matéria seca (g) da parte aérea	
	Aquecimento basal		Aquecimento basal		Aquecimento basal	
	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
0	0,000000	0,179662	0,000000	0,125547	0,000000	0,215363
2000	0,178125	0,207405	0,193485	0,128236	0,326112	0,188056
4000	0,183243	0,209261	0,189817	0,123617	0,310842	0,186458
6000	0,158997	0,210647	0,162197	0,120993	0,299984	0,179687
8000	0,192846	0,179170	0,132962	0,121054	0,212380	0,213900
10000	0,168519	0,182526	0,207792	0,188653	0,360834	0,325686