UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

JURANDYR JOSÉ TON GIURIATTO JÚNIOR

INFLUÊNCIA DA IDADE DA ESTACA NO CRESCIMENTO E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE MUDAS CLONAIS DE CAFEEIROS ROBUSTA

ROLIM DE MOURA

2019

JURANDYR JOSÉ TON GIURIATTO JÚNIOR

INFLUÊNCIA DA IDADE DA ESTACA NO CRESCIMENTO E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE MUDAS CLONAIS DE CAFEEIROS ROBUSTA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais, sob a orientação do pesq. Dr. Marcelo Curitiba Espindula.

ROLIM DE MOURA

2019

JURANDYR JOSÉ TON GIURIATTO JÚNIOR

Influência da idade da estaca no crescimento e qualidade fisiológica de mudas clonais de cafeeiros Robusta

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais, sob a orientação do pesq. Dr. Marcelo Curitiba Espindula.

APROVADA: 22 de julho de 2019.

Marcelo Curitiba Espindula
Pesq. Dr. Marcelo Curitiba Espindula
Embrapa Rondônia (Orientador)

Larissa Fatarelli Bento de Araújo
Dra. Larissa Fatarelli Bento de Araújo
Pós doutoranda PGCA (Coorientadora)

Marcela Campanharo
Prof. Dra. Marcela Campanharo
Universidade Federal de Rondônia (Membro Externo)

Jaqueline M Vasconcelos
Prof. Dra. Jaqueline Martins Vasconcelos
Universidade Federal de Rondônia (Membro Externo)

Dedico a meu pai e minha mãe (Jurandyr e Elizeth) e ao meu querido irmão Gabriel.

AGRADECIMENTO

A Deus pelo dom da vida, por guiar os meus passos por jamais ter deixado que eu desistisse.

Aos meus pais e irmão que estiveram de prontidão para me ajudar e não deixaram de se esforçarem para que esta realização fosse possível.

À minha namorada Camila Fernandes pelo apoio e, principalmente, pelas orações.

À Universidade Federal de Rondônia e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais pela oportunidade de realizar o curso de Pós Graduação em Ciências Ambientais.

Ao pesquisador da Embrapa Rondônia Dr. Marcelo Curitiba por acreditar e confiar no meu trabalho e por ter aceitado o desafio de orientar esta pesquisa. Agradeço também pela amizade e companheirismo.

À todos os pesquisadores, analistas, técnicos, bolsistas e estagiários dos campos experimentais da Embrapa em Ouro Preto do Oeste – RO e Porto Velho – RO pela imensa colaboração durante a realização desta pesquisa.

À professora Dra. Jaqueline Martins Vasconcelos por ceder o Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Rondônia para a realização das análises anatômicas, e agradeço a estagiária Taíza Vicentim pela ajuda com as análises anatômicas.

À Pós Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Ciências Ambientais Larissa Fatarelli Bento de Araújo por todo apoio e contribuições durante o desenvolvimento desta pesquisa.

À Fundação Rondônia de Amparo ao Desenvolvimento das Ações Cientificas e Tecnológicas e à Pesquisa do Estado de Rondônia pela concessão bolsa de estudos.

À banca examinadora pelo trabalho dedicado na avaliação desta pesquisa e pelas contribuições ao trabalho.

Aos meus amigos João Witor, Paulo Henrique, Inácio Lucas, Rafael Freitas e Marcelo Henrique pelas contribuições valiosas para o desenvolvimento desta pesquisa.

RESUMO

A formação adequada de mudas clonais de cafeeiros Robusta depende das características intrínsecas da estaca utilizada, características estas, que variam ao longo das hastes ortotrópicas de onde são retiradas. Objetivou-se neste estudo avaliar a influência da idade das estacas no crescimento e qualidade fisiológica de mudas clonais de cafeeiro *Coffea canephora* 'Robusta'. As idades de formação das estacas foram: 30, 60, 90, 120 e 150 dias, o que correspondeu a cinco posições na haste ortotrópica secundária (broto), do ápice para a base. Na primeira parte do estudo foram avaliadas as taxas de acúmulo de massa seca e de crescimento absoluto e relativo das mudas até o 188° dia após o estaqueamento (DAE), bem como, as características vegetativas das mudas após 125 dias de crescimento no viveiro. Todas as idades das estacas estudadas apresentaram curvas de acúmulo de massa seca e de crescimento semelhantes, com lento crescimento até 83 dias, seguido de um período de intenso crescimento entre 83 e 125 dias e queda acentuada após esse período. Contudo, apesar de crescimento semelhante, as estacas de 60, 90 e 120 dias foram as que proporcionam o melhor desempenho vegetativo das mudas aos 125 dias após o estaqueamento. Na segunda parte do estudo foram determinados os conteúdos de massa seca das estacas, os teores de nutrientes nos tecidos, o conteúdo de nutrientes nas estacas e as características anatômicas dos tecidos das estacas. A medida que os propágulos vegetativos ficam mais velhos os teores de N, P, K, Mg e S diminuem e o teor de Ca aumenta, porém, o conteúdo de todos os macronutrientes tendem a aumentar, devido ao maior acúmulo de massa seca na estaca. As idades de formação das estacas influenciam na anatomia dos tecidos dérmico, vascular e fundamental, não apresentando impedimento ao enraizamento adventício.

Palavras-chave: *Coffea canephora*. Propagação vegetativa. Taxas de crescimento.

ABSTRACT

The proper formation of clonal seedlings of Robusta coffee trees depends on the intrinsic characteristics of the cuttings used, which vary along the orthotropic stems from which they are taken. The objective of this study was to evaluate the influence of cuttings age on growth and physiological quality of *Coffea canephora* 'Robusta' coffee seedlings. The ages of formation of the cuttings were: 30, 60, 90, 120 and 150 days, which corresponded to five positions in the secondary orthotropic stem (sprout), from the apex to the base. In the first part of the study were evaluated the dry mass accumulation rates and the absolute and relative growth of the seedlings until the 188th day after the staking (DAE), as well as the vegetative characteristics of the seedlings after 125 days of growth in the nursery. All cuttings ages studied showed similar dry mass and growth curves, with slow growth up to 83 days, followed by a period of intense growth between 83 and 125 days and a sharp fall after this period. However, despite similar growth, the 60, 90 and 120 day cuttings provided the best vegetative performance of the seedlings at 125 days after staking. In the second part of the study, the dry mass content of the cuttings, the nutrient content in the tissues, the nutrient content in the cuttings and the anatomical characteristics of the cuttings tissues were determined. As vegetative propagules grow older, N, P, K, Mg and S contents decrease and Ca content increases, but the content of all macronutrients tends to increase due to the higher dry mass accumulation in the stake. . The ages of cut formation influence the anatomy of dermal, vascular and fundamental tissues, not presenting impediment to adventitious rooting.

Keywords: *Coffea canephora*. Vegetative propagation. Growth rates.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Temperaturas (°C) (A) e umidades relativas do ar (%) (B) máximas e mínimas registradas dentro da casa de vegetação durante o período de formação das mudas 21

Figura 2 - Acúmulo de massa seca (A); Taxa de Crescimento Absoluto (B) e Taxa de Crescimento Relativo (C) de mudas de cafeeiros Robusta formadas a partir de estacas com diferentes idades de formação 24

Figura 3 - Características vegetativas de mudas de cafeeiros Robusta, aos 125 DAE, formadas a partir de estacas com diferentes idades de formação. Comprimento do caule (A); área foliar (B); número de raízes (C); volume do sistema radicular (D); massa seca da parte aérea, sistema radicular e total (E) e índice de qualidade de Dickson (F) de mudas 26

Figura 4 - Massa seca das estacas utilizadas para a produção de mudas clonais de cafeeiros Robusta 40

Figura 5 - Teor de N, P, K, Ca, Mg e S (g kg^{-1}) em função da idade da estaca utilizada para a produção de mudas de cafeeiro Robusta 41

Figura 6 - Conteúdo de N, P, K, Ca, Mg e S (mg $estaca^{-1}$) em função da idade da estaca utilizada para a produção de mudas de cafeeiro Robusta 42

Figura 7 - Espessura do xilema (A); espessura do floema (B); espessura do cilindro vascular (C) e espessura da epiderme (D), em µm, em função da idade da estaca utilizada para a produção de mudas de cafeeiro Robusta 44

Figura 8 - Anatomia de estacas de diferentes idades utilizada para a produção de mudas de cafeeiro Robusta. Estacas com 30 dias (A-B); 60 dias (C-D); 90 dias (E-F); 120 dias (G-H) e 150 dias (I-J). Ep: epiderme; Ct: parênquima cortical; Xi: xilema; Fl: floema; M: medula 45

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL **11**

REFERÊNCIAS **14**

2 CRESCIMENTO E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE MUDAS CLONAIS DE CAFEEIROS ROBUSTA **16**

RESUMO **16**

ABSTRACT **17**

2.1 Introdução ***18***

2.2 Material e Métodos ***19***

2.3 Resultados ***22***

2.4 Discussão ***27***

2.5 Conclusões ***29***

REFERÊNCIAS **30**

3 CONTEÚDO DE MACRONUTRIENTES E ANATOMIA DA ESTACA PARA A PRODUÇÃO DE MUDAS CLONAIS DE CAFEEIROS ROBUSTA **33**

RESUMO **33**

ABSTRACT **34**

3.1 Introdução ***35***

3.2 Material e Métodos ***36***

3.3 Resultados ***39***

3.4 Discussão ***46***

2.5 Conclusões ***48***

REFERÊNCIAS **48**

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS **51**

1 INTRODUÇÃO GERAL

A espécie *Coffea canephora* apresenta autoincompatibilidade do tipo gametofítica, controlada por um único gene que inibe o crescimento do tubo polínico e impede a fecundação da oosfera e formação do embrião, tornando a espécie autoestéril e alógama (CARVALHO e FAZUOLI, 1993). Esse mecanismo de autoincompatibilidade é altamente eficiente no controle da autofecundação e no cruzamento de indivíduos aparentados, portadores dos mesmos alelos de incompatibilidade, característica essa, que torna a população de canéfora extremamente desuniforme, em função da elevada heterozigose apresentada nas plantas individuais e que gera ampla segregação na descendência (SOUZA et al., 2015).

Devido a essa impossibilidade fisiológica de reprodução uniforme de indivíduos por via sexuada, técnicas de propagação vegetativa são amplamente utilizadas para a produção de mudas de canéfora (DIAS et al., 2012; VERDIN FILHO et al., 2014). Dentre essas técnicas, os métodos de estaquia (enraizamento de estacas caulinares) e a embriogênese somática (micropropagação) via explantes foliares são consideradas adequadas para a produção de mudas de cafeeiro canéfora (ALMEIDA et al., 2011; ENRIQUEZ, 2015). Essas técnicas permitem explorar por completo o valor genotípico da planta matriz (RAMALHO et al., 2016), mantendo características genéticas, promovendo a homogeneidade, produtividade e resistência da lavoura (PARTELLI et al., 2006; ANDRADE JUNIOR et al., 2013).

A clonagem por estaquia é a principal técnica utilizada em viveiros comerciais destinados a produção de mudas de *Coffea canephora* (COVRE et al., 2013). Para essa técnica, Espindula et al. (2015) recomendam que as estacas devem ser obtidas de ramos ortotrópicos pouco lignificados, com quatro a oito nós, contendo pares de folhas sadias e com presença de ramos plagiotrópicos. Os mesmos autores sugerem que no preparo da estaca, os segmentos de caule contendo um nó, devem ser individualizados por meio de um corte cerca de 1 cm acima da inserção dos ramos produtivos e, 4 a 5 cm abaixo da inserção das folhas, obtendo uma estaca com aproximadamente 5 a 7 cm de comprimento. Ainda, é necessário a retirada dos ramos produtivos e 2/3 do limbo de cada folha.

Apesar do método de estaquia ser fisiologicamente viável, possibilitar a exploração por completo do valor genotípico da planta matriz e garantir a máxima

homogeneidade da lavoura (PAIVA et al., 2012), essa técnica por si só, não garante a qualidade fisiológica das mudas.

Para garantir a eficiência dessa técnica de propagação vegetativa e a produção de mudas com qualidade fisiológica, ou seja, com formação adequada do sistema radicular e parte aérea, é necessário conhecer quais fatores e como estes podem influenciar na formação das mudas no viveiro. Neste contexto, o enraizamento da estaca é resultado da combinação dos fatores exógenos, temperatura, luz, umidade e substrato (SOUZA; GENTIL, 2013) com fatores endógenos, relacionados ao balanço hormonal, quantidade de carboidratos de reserva, composição química do tecido (OLIVEIRA et al., 2012) e a anatomia das estacas (JESUS et al., 2010).

As características endógenas são determinadas pela idade da estaca na planta matriz, ou seja, o estádio de maturação da estaca, que influencia o balanço hormonal, a quantidade de carboidratos de reserva, a composição química do tecido e a anatomia caulinar. Além disso, os estádios de maturação geram um gradiente de concentração de hormônios, de acúmulo de nutrientes e carboidratos de reserva na haste ortotrópica e, por isso, estacas com diferentes idades de formação tendem a diferir quanto ao potencial de enraizamento (ROSA et al., 2017).

Com relação a este potencial de enraizamento, estacas mais jovens (do ápice caulinar) apresentam células meristemáticas com metabolismo mais ativo, menor grau de lignificação dos tecidos e ausência ou menor quantidade de compostos fenólicos, o que facilita o enraizamento (HARTMANN et al., 2011). Porém, essas estacas possuem limitada reserva de nutrientes orgânicos e inorgânicos em seus tecidos, podendo resultar em baixo índice de sobrevivência (LIMA et al., 2006). Além disso, essas estacas estão mais predispostas a desidratação em função da menor estabilidade dos tecidos, menor espessura radial e, consequentemente, menor conteúdo de matéria fresca (COELHO e AZEVEDO, 2016).

Outro fator endógeno que também pode afetar o enraizamento das estacas é a anatomia do caule. Isso porque, o desenvolvimento de um anel continuo de esclerênquima, entre o floema e o córtex, constitui em uma barreira anatômica ao enraizamento adventício em várias espécies com crescimento secundário (JESUS et al., 2010; GOMES e KRINSKI, 2016), logo, a capacidade de enraizamento da estaca é inversamente proporcional a continuidade da barreira esclerenquimática que se forma

no caule. A principal característica do esclerênquima é a presença de paredes secundárias espessadas, ocorrendo o acúmulo de lignina, sendo a formação do tecido esclerenquimático associado a maturidade do caule.

Nesse contexto, o objetivo neste estudo foi avaliar a influência dos estádios de maturação fisiológica da estaca no crescimento e qualidade fisiológica de mudas clonais de cafeeiro *Coffea canephora* da variedade botânica Robusta.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, G. R. R.; CARVALHO, C. H. S.; GUIMARÃES, R. J.; TEIXEIRA, J. B.; PADILHA, L. Comportamento de cafeeiros propagados por embriogênese somática e por sementes em diferentes níveis de água no solo. **Coffee Science**, Lavras, v. 6, n. 2, p. 114-119, 2011.

ANDRADE JÚNIOR, S.; ALEXANDRE, R. S.; SCHMILDT, E. R.; PARTELLI, F. L.; FERRÃO, M. A. G.; MAURI, A. L. Comparison between grafting and cutting as vegetative propagation methods for conilon coffee plants. **Acta Scientarium. Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 4, p. 461-469, 2013.

CARVALHO, A.; FAZUOLI, L. C. Café. In: FURLANI, A. M. C.; VIÉGAS, G. P. **O melhoramento de plantas no instituto agronômico**. Campinas: Instituto Agronômico, 1993, v.1, p. 29-76.

COELHO, M. F. B.; AZEVEDO, R. A. B. Efeito do tipo de estaca na propagação de *Turnera subulata*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 3, p. 435-438, 2016.

COVRE, A. M.; PARTELLI, F. L.; MAURI, A. L.; DIAS, M. A. Crescimento e desenvolvimento inicial de genótipos de café Conilon. **Revista Agro@mbiente On-line**, Boa Vista, v. 7, n. 2, p. 193-202, 2013.

DIAS, J. R. M.; SILVA, E. D. A.; GONÇALVES, G. S.; SILVA, J. F.; SOUZA, E. F. M.; FERREIRA, E.; STACHIW, R. Enraizamento de estacas de cafeeiro imersas em extrato aquoso de tiririca. **Coffee Science**, Lavras, v. 7, n. 3, p. 259 – 266, 2012.

ENRIQUEZ, E. A. E. **Influência da posição das gemas no ramo ortotrópico e adaptações fisiológico-anatômicas no desenvolvimento de estacas de café Conilon**. 2015. 40 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Viçosa, Rio Paranaíba, MG, 2015.

ESPINDULA, M. C.; MAURI, A. L.; RAMALHO, A. R.; DIAS, J. R. M.; FERREIRA, M. G. R.; SANTOS, M. R. A.; MARCOLAN, A. L. Produção de mudas. In: MARCOLAN, A.; ESPINDULA, M. C. **Café na Amazônia**. Brasília: Embrapa, p. 129-154, 2015.

GOMES, E. N.; KRINSKI, D. Propagação vegetativa de *Piper amalogo* L. (Piperaceae) em função de tipos de estacas e substratos. **Cultura Agronômica**, Ilha Solteira, v. 25, n. 2, p. 199-210, 2016.

HARTMANN, H. T. KESTER, D. E.; DAVIES JR, F. T.; GENEVE, R. L. **Hartmann and Kester's PLANT PROPAGATION**: Principles and pratices. Boston: Prentice Hall. 8ed. 2011. 915 p.

JESUS, A. M. S.; CARVALHO, S. P.; CASTRO, E. M.; GOMES, C. N. Observações anatômicas em plantas de *Coffea arabica* L. obtidas por enraizamento de estacas. **Revista Ceres**, Viçosa, v.57, n. 2, p.175-180, 2010.

LIMA, R. L. S.; SIQUEIRA, D. L.; WEWBER, O. B.; CAZETTA, J. O. Comprimento de estacas e parte do ramo na formação de mudas de aceroleira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 83-86, 2006.

OLIVEIRA, R. J. P.; AIRES, R. F.; CAMPOS, A. D. Teores de carboidratos em estacas lenhosas de mirtileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 4, p. 1199-1207, 2012.

PAIVA, R. F.; MENDES, A. N. G.; CARVALHO, G. R.; REZENDE, J. C.; FERREIRA, A. D.; CARVALHO, A. M. Comportamento de cultivares de cafeeiros *C. arabica* L. enxertados sobre cultivar 'Apoatã IAC 2258' (*Coffea canephora*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 7, p. 1155-1160, 2012.

PARTELLI, F. L.; VIEIRA, H. D.; SANTIAGO, A. R.; BARROSO, D. G. Produção e desenvolvimento radicular de plantas de café 'Conilon' propagadas por sementes e por estacas. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 6, p. 949-954, 2006.

RAMALHO, A. R.; ROCHA, R. B.; SOUZA, F. F.; VENEZIANO, W.; TEIXEIRA, A. L. Progresso genético da produtividade de café beneficiado com a seleção de clones de cafeeiro 'Conilon'. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 47, n. 3, p. 516 - 523, 2016.

ROSA, G. G.; ZANANDREA, I.; MAYER, N. A.; BIANCHI, V. J. Propagação de porta-emxerto de *Prunus spp*. Por estaquia: efeito do genótipo, do estádio de desenvolvimento do ramo e do tipo de estaca. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 64, n. 1, p.90-97, 2017.

SOUZA, F. F.; FERRÃO, L. V. V.; CAIXETA, E. T.; SAKIYAMA, N. S.; PEREIRA, A. A.; OLIVEIRA, A. C. B. Aspectos gerais da biologia e da diversidade genética de *Coffea canephora*. (Ed.). In: MARCOLAN, A. L.; ESPINDULA, M. C. **Café na Amazônia**. Brasilia: Embrapa, p. 85-98, 2015.

SOUZA, L. V.; GENTIL, D. F. O. Estaquia da cultivar de tomateiro Yoshimatsu. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 1, 2013.

VERDIN FILHO, A. C.; MAURI, A. L.; VOLPI, P. S.; FONSECA, A. F. A.; FERRÃO, R. G.; FERRÃO, M. A. G.; RODRIGUES, W. N.; ANDRADE JÚNIOR, S. A.; COLODETTI, T. V. Growth and quality of clonal plantlets of Conilon coffee (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) influenced by types of cuttings. **American Journal of Plant Sciences**, Canadá, v. 5, p. 2148-2153, 2014.

2 CRESCIMENTO E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE MUDAS CLONAIS DE CAFEEIROS ROBUSTA

RESUMO

As características intrínsecas do propágulo vegetativo podem influenciar na velocidade de enraizamento e crescimento da parte aérea, bem como, na qualidade fisiológica final de mudas clonais de cafeeiros *Coffea canephora*. Diante disso, o objetivo neste estudo foi avaliar o crescimento e a qualidade fisiológica de mudas de cafeeiros 'Robusta' produzidas a partir de propágulos (estacas caulinares) com diferentes idades. O estudo foi conduzido em casa de vegetação, no município de Ouro Preto do Oeste, Rondônia, Brasil (10˚45'43" S e 62˚15'10" W). As idades de formação das estacas foram: 30, 60, 90, 120 e 150 dias, o que correspondeu a cinco posições na haste ortotrópica secundária (broto), do ápice para a base. Foram avaliadas as taxas de acúmulo de massa seca e de crescimento relativo e absoluto durante 188 dias após o estaqueamento, bem como, características vegetativas das mudas aos 125 dias após o estaqueamento. Sobre o crescimento conclui-se que este pode ser dividido em três fases: 1) Inicial: crescimento lento, com duração de aproximadamente 83 dias; 2) Intermediária: de rápido crescimento, com duração de aproximadamente 40 dias; 3) Final: de crescimento lento, que tem início aproximadamente 125 dias após o estaqueamento. Sobre a qualidade fisiológica conclui-se que, apesar de todas as idades das estacas apresentarem curvas de crescimento semelhantes, as estacas de 60, 90 e 120 dias são as que proporcionam o melhor desempenho vegetativo das mudas aos 125 dias após o estaqueamento.

Palavras-chave: *Coffea canephora*. Estaquia. Idade da estaca. Estádios de maturação.

ABSTRACT

The intrinsic characteristics of the vegetative propagule can influence the rooting speed and shoot growth, as well as the final physiological quality of clonal seedlings of Coffea canephora coffee trees. Therefore, the objective of this study was to evaluate the growth and physiological quality of 'Robusta' coffee seedlings produced from propagules (stem cuttings) of different ages. The study was conducted in a greenhouse in the municipality of Ouro Preto do Oeste, Rondônia, Brazil (10˚45’43 ”S and 62˚15’10” W). The ages of formation of the cuttings were: 30, 60, 90, 120 and 150 days, which corresponded to five positions in the secondary orthotropic stem (sprout), from the apex to the base. Dry mass accumulation and relative and absolute growth rates were evaluated during 188 days after staking, as well as seedling vegetative characteristics at 125 days after staking. On growth it can be divided into three phases: 1) Initial: slow growth, lasting approximately 783 days; 2) Intermediate: fast growing, lasting approximately 40 days; 3) Final: Slow growing, which begins approximately 125 days after staking. Regarding the physiological quality, it can be concluded that, despite the fact that all cuttings ages had similar growth curves, the 60, 90 and 120 days cuttings provide the best vegetative performance of the seedlings at 125 days after the staking.

Keywords: *Coffea canephora*. Cutting. Stake age. Stages of maturation.

2.1 Introdução

A autoincompatibilidade gametofítica apresentada pelo cafeeiro *Coffea canephora* induz a planta a alogamia. Esse mecanismo é altamente eficaz no controle da autofecundação e no cruzamento de indivíduos aparentados, portadores dos mesmos alelos de incompatibilidade (SOUZA et al., 2015).

Como consequência da reprodução alógama, mudas formadas a partir de sementes não reproduzem as características de interesse da planta mãe e resultam em lavouras desuniformes e heterogêneas. Em virtude disso, para a produção comercial de mudas visando obter variedades uniformes e produtivas, a propagação vegetativa (clonagem) é o principal meio de reprodução de espécie (VERDIM FILHO et al., 2014).

Entre as técnicas de clonagem, o método de estaquia (enraizamento de estacas caulinares) se destaca por ser fisiologicamente viável (CHAGAS et al., 2012) pois permite explorar por completo o valor genotípico da planta matriz (RAMALHO et al., 2016), mantendo as características genéticas e promovendo a homogeneidade, produtividade e resistência da lavoura (PARTELLI et al., 2006). Este método consiste nos processos de desdiferenciação, rediferenciação, alongamento e divisão celular em resposta a concentração de auxina, formando, assim, raízes adventícias em órgãos vegetativos (TAIZ et al., 2017).

Além das características genéticas da variedade, durante o processo de formação de mudas pelo método de estaquia, a capacidade de uma estaca emitir raízes está associada às condições do ambiente, tais como umidade, substrato e luz (ROSA et al., 2017) e a qualidade fisiológica do propágulo vegetativo (estaca). Esta última, por sua vez, está relacionada ao estado nutricional da planta matriz, bem como, a quantidade de carboidratos e reguladores de crescimento presentes no propágulo, e que são fundamentais para a indução e o crescimento das raízes (OLIVEIRA et al., 2012).

Como a composição química do tecido, a quantidade de carboidratos, a presença de auxinas e o grau de lignificação dos tecidos variam ao longo dos ramos, logo, o potencial de enraizamento das estacas obtidas com diferentes porções dos ramos também tende a diferir (SANTOS et al., 2016). Além disso, essas características intrínsecas dos propágulos podem determinar a velocidade de enraizamento e a formação da parte aérea das mudas, sendo essas características fundamentais para avaliar o desenvolvimento das mudas no viveiro (HENRIQUE et al., 2011).

Para a espécie *arabica*, os resultados apontam que estacas semilenhosas localizadas na porção mediana dos ramos apresentam melhores resultados no processo de enraizamento (REZENDE et al., 2010) e os autores sugerem que este resultado pode estar relacionado ao maior equilíbrio das características intrínsecas dos propágulos vegetativos. No entanto, para o canéfora, informações sobre a qualidade fisiológica dos propágulos ainda são restritas. Dessa forma, como a estaquia é a principal forma de propagação vegetativa utilizada para a espécie, informações referentes as características intrínsecas dos propágulos podem auxiliar no processo de produção e determinar quais características resultam em mudas com maior qualidade fisiológica.

Diante disso, o objetivo neste trabalho foi avaliar o crescimento e as características vegetativas de mudas clonais de cafeeiros 'Robusta' produzidas a partir de propágulos com diferentes idades de formação.

2.2 Material e Métodos

O experimento foi realizado no período de novembro de 2017 a abril de 2018 em casa de vegetação localizada no Campo Experimental da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, no município de Ouro Preto do Oeste, Rondônia (10˚45'43" S e latitude 62˚15'10" W), a altitude de 300 m. O clima é do tipo Am segundo a classificação climática de Köppen (ALVARES et al., 2014) com temperatura média anual de 25°C e precipitação média de 2.000 mm ano^{-1}. O período chuvoso está compreendido entre os meses de outubro-novembro até abril-maio.

O experimento foi constituído por cinco tratamentos e nove períodos de avaliação. Os tratamentos referem-se à idade de formação das estacas caulinares na planta matriz (30, 60, 90, 120 e 150 dias) selecionados a partir da primeira estaca do ápice que continha dois ramos plagiotrópicos. Os períodos de avaliação foram zero (massa seca da estaca); 41; 62; 83; 104; 125; 146; 168 e 188 dias após o estaqueamento (DAE). O experimento foi implantado em delineamento inteiramente casualizado, disposto em esquema fatorial 5 × 9, com cinco repetições. Cada parcela experimental foi constituída por seis estacas/mudas.

As estacas foram retiradas de plantas matrizes de cafeeiros *Coffea canephora*, da variedade botânica Robusta, pertencentes ao programa de melhoramento genético da

Embrapa-RO. O campo de plantas matrizes estava com cinco anos de idade e estava sendo conduzido seguindo as recomendações técnicas para cultura (MARCOLAN et al., 2009).

As estacas foram formadas por um segmento de haste ortotrópica, destacada de sua haste original por meio de um corte reto na parte superior, 1 cm acima da inserção dos ramos plagiotrópicos e um corte reto 5 cm abaixo do nó (inserção das folhas). Os ramos plagiotrópicos foram eliminados e as folhas remanescentes na estaca tiveram seu comprimento reduzido em 2/3 do total para reduzir a perda de água e evitar a desidratação (DIAS et al., 2012).

Para obtenção das estacas caulinares com diferentes idades de formação foram utilizadas hastes ortotrópicas com 150 dias de idade, retiradas do terço médio da planta matriz. Estas hastes apresentavam cinco segmentos nodais com um par de folhas completamente expandido, no qual, foram seccionados em cinco partes considerando sua posição no ramo e o tempo de crescimento. Assim, o primeiro segmento, formado a partir da região basal da haste, compôs a estaca com 150 dias de idade; o segmento formado logo acima, na parte semi-basal, compôs a estaca com 120 dias de idade; o próximo segmento, formado a partir da região mediana da haste, compôs a estaca com 90 dias de idade; em seguida, o segmento formado da região semi-apical compôs a estaca com 60 dias de idade e o segmento formado logo abaixo do meristema apical compôs a estaca com 30 dias de idade.

As estacas individualizadas foram acondicionadas em tubetes com capacidade de 280 cm^3, preenchidos 7 dias antes do recebimento das estacas com substrato comercial Vivatto Plus®. Ao substrato foi adicionado o fertilizante de liberação controlada Osmocote Plus® 5M e superfosfato triplo na proporção de 1 e 0,5 kg para cada 100 kg de substrato, respectivamente. O substrato Vivatto Plus® é composto por moinha de carvão vegetal, casca de pinus e turfa e o fertilizante Osmocote Plus® apresenta 15% de N, 9% de P_2O_5, 12% de K_2O, 1,3% de Mg, 6% de S, 0,05% de Cu, 0,46% de Fe, 0,06% de Mn e 0,02% de Mo. Posteriormente, os tubetes com substrato foram alocados em bancadas suspensas, dentro da casa de vegetação, onde receberam irrigação constante para absorção de água e saturação dos microporos. Cada tubete recebeu uma estaca.

O manejo das mudas na casa de vegetação seguiu as recomendações técnicas para a cultura (ESPINDULA et al., 2015). Foi realizada irrigação intermitente por meio

de nebulizadores associado a temporizador automático, programado para acionar o sistema por 10 segundos a cada 7 minutos, nos primeiros 40 dias; 20 segundos a cada 20 minutos de 40 a 80 dias e 30 segundos a cada 30 minutos de 80 até 120 dias. Após 120 dias as mudas foram regadas manualmente duas vezes por dia, as 8:00h e 16:00h. Os valores de temperatura e umidade relativa do ar máxima e mínima dentro da casa de vegetação foram registrados durante o período experimental (Figura 1).

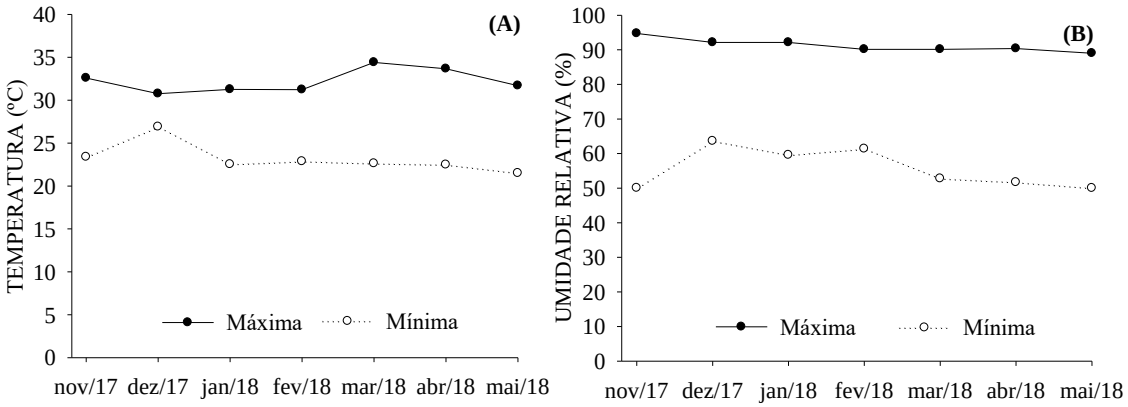

Figura 1 – Temperaturas (°C) (A) e umidades relativas do ar (%) (B) máximas e mínimas registradas dentro da casa de vegetação durante o período de formação das mudas.

Acúmulo de massa seca e taxas de crescimento

Aos 41; 62; 83; 104; 125; 146; 168 e 188 DAE as mudas foram retiradas dos tubetes, lavadas para a remoção do substrato e conduzidas ao laboratório, onde foi determinado o acúmulo de massa seca (AMS) por meio de balança analítica, após secagem em estufa de circulação forçada de ar a 65 ºC até atingir massa constante. A partir dos dados de massa seca foram determinados os índices fisiológicos: taxa de crescimento absoluto (TCA) e taxa de crescimento relativo (TCR) pelas fórmulas: TCA (mg dia^{-1}) = (M2-M1)/(T2-T1), onde M1 e M2 é a variação da massa em duas amostragens consecutivas tomadas nos tempos T1 e T2, e TCR (mg mg^{-1} dia^{-1}) = (lnM2-lnM1)/(T2-T1), onde ln é o logaritmo neperiano e M1 e M2 representam a massa nos tempos T1 e T2 (PEIXOTO et al., 2011).

Características vegetativas das mudas aos 125 dias após o estaqueamento

Aos 125 dias após o estaqueamento, tempo médio para formação de mudas clonais de *Coffea canephora* no estado de Rondônia (ESPINDULA et al., 2015) foram

determinadas as características vegetativas: 1) número de raízes maiores que 0,5 cm (NR), por contagem direta; 2) volume do sistema radicular (VR), determinado em proveta graduada, por diferença de volume deslocado; 3) comprimento do caule (CC), determinado pela medição direta do ponto de inserção do maior broto, na estaca, até o meristema apical; 4) área foliar (AF), determinada por meio do software DDA – Determinador Digital de Área (FERREIRA et al., 2008); 5) massa seca das raízes (MSR), 6) massa seca da parte aérea (MSPA), e 7) massa seca total (MST), determinadas em balança analítica após secagem em estufa de circulação forçada de ar a 65 ºC até atingir massa constante; 8) índice de qualidade de Dickson (IQD), obtido pela fórmula; IQD = MST/[(CC/DC) + (MSPA/MSR)] (DICKSON et al., 1960), onde MST= massa seca total; CC= comprimento do caule; DC= diâmetro do caule; MSPA= massa seca da parte aérea; e MSR = massa seca da raiz.

Os dados foram submetidos à análise de regressão utilizando o Software SigmaPlot®. Os modelos matemáticos foram escolhidos levando-se em consideração os maiores valores dos coeficientes de determinação (r^2/R^2), a significância dos coeficientes de regressão (βi) e do teste F da regressão, ambos até 5% de probabilidade, bem como, pelo comportamento do fenômeno biológico.

2.3 Resultados

Acúmulo de massa seca e taxas de crescimento

O acúmulo de massa seca (AMS) e as taxas de crescimento absoluto (TCA) e relativo (TCR) evidenciaram padrões comuns de crescimento, independentemente da idade de formação da estaca. Para o acúmulo de massa seca, observou-se comportamento não linear, do tipo sigmoidal, com reduzidas taxas de acúmulo até a avaliação do 83º DAE, seguido de rápido incremento entre 83º e 125º dias e, finalmente, por um período de pouco acúmulo de massa seca, entre as avaliações de 125 e 188 DAE (Figura 2A).

As curvas de acúmulos de massa seca apresentaram pontos de inflexão em diferentes fases do período de crescimento das mudas. Esta diferença foi mais pronunciada entre as estacas mais jovens, 30 dias de idade, e as demais idades de formação. Para essas estacas, o início da fase de rápido acúmulo ocorreu entre o 83° e o

104° DAE, enquanto para as demais o início da fase de rápido acúmulo ocorreu mais cedo, entre 62 e 83 DAE.

Com relação as taxas de crescimento absoluto e relativo, foi observado comportamento não linear, do tipo pico gaussiano, caracterizado por um período de lento crescimento (até aproximadamente 83 DAE), seguido de um período de intenso crescimento (entre 83 a 125 DAE) e, posterior redução acentuada até 146 DAE. Após este período houve estagnação no crescimento (Figuras 2B e 2C).

Para as taxas de crescimento absoluto, apesar de todas as idades apresentarem comportamento gaussiano, com picos de crescimento próximos ao 118° DAE, estes picos ocorreram com diferentes intensidades. Esta diferença foi mais pronunciada entre as estacas com maiores diferenças de idade, 30 e 150 dias de formação, com picos de crescimento de 118,92 mg dia^{-1} e 58,60 mg dia^{-1}, respectivamente (Figura 2B)

Semelhantemente ao que ocorreu com a TCA, na TCR também foi observado diferentes intensidades de picos de crescimento, especialmente entre as estacas com as maiores diferenças de idade, 30 e 150 dias, cujos picos de crescimento foram com 44 e 19 mg mg^{-1} dia^{-1}, respectivamente. Além disso, ao contrário do que ocorreu na TCA, na TCR os picos ocorreram em diferentes períodos do crescimento, 118° DAE para as estacas de 30 dias e 106° dias para as estacas de 150 dias. (Figura 2C).

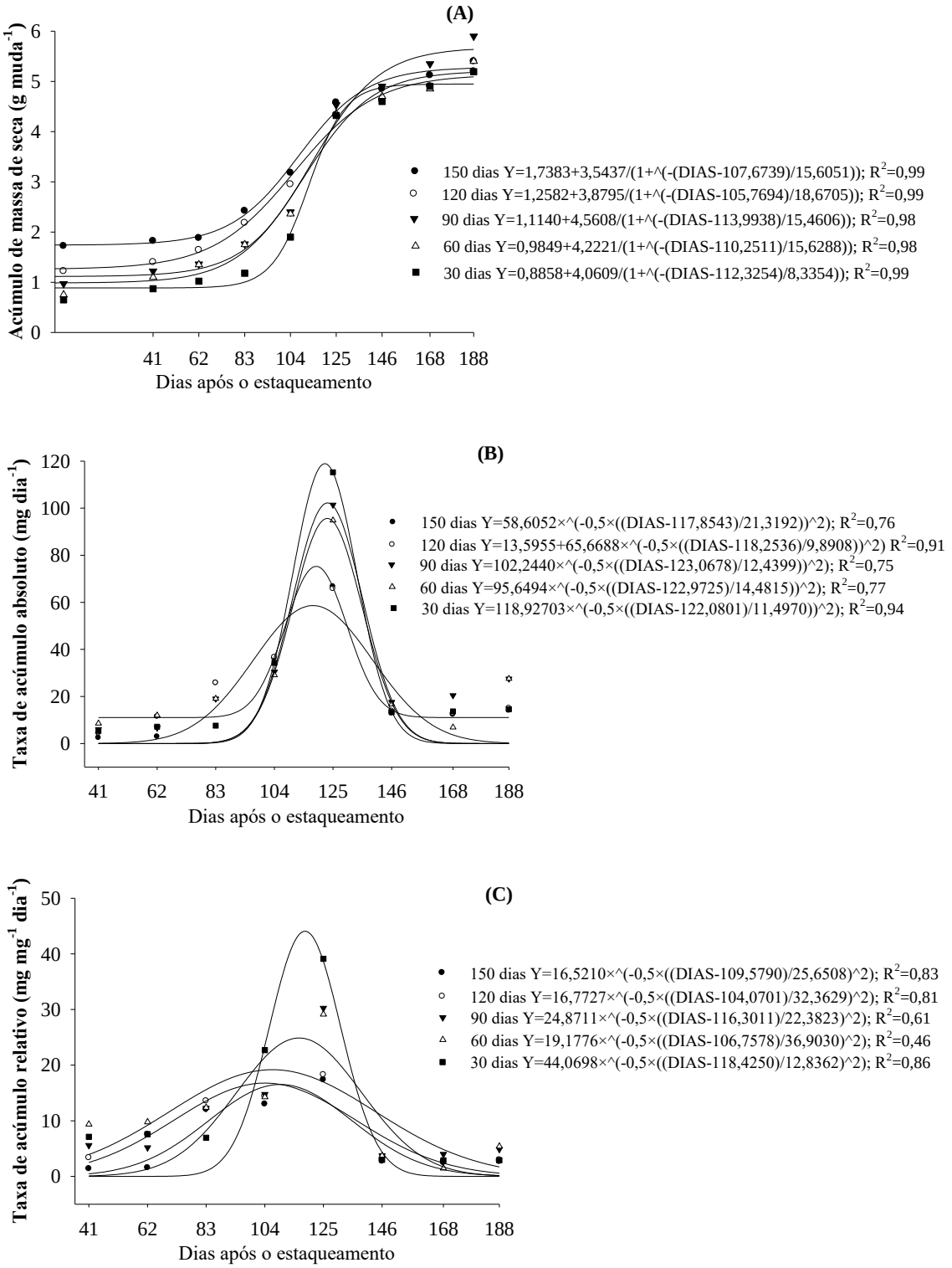

Figura 2 – Acúmulo de massa seca (A); Taxa de Crescimento Absoluto (B) e Taxa de crescimento Relativo (C) de mudas de cafeeiros Robusta formadas a partir de estacas com diferentes idades de formação.

Características vegetativas das mudas aos 125 dias após o estaqueamento

Todas as características vegetativas das mudas, CC, AF, NR, VR, MSPA, MST e MST foram influenciadas pela idade de formação da estaca. O comportamento se ajustou ao modelo polinomial quadrático. Com pontos de máximo obtidos nas estacas com 90 dias de formação (Figura 3A, B, C, D e E). O índice de qualidade de Dickson (IQD) não se ajustou a nenhum modelo matemático, sendo o valor médio de 0,62 atribuído a todas as mudas, independente da idade de formação da estaca (Figura 3F).

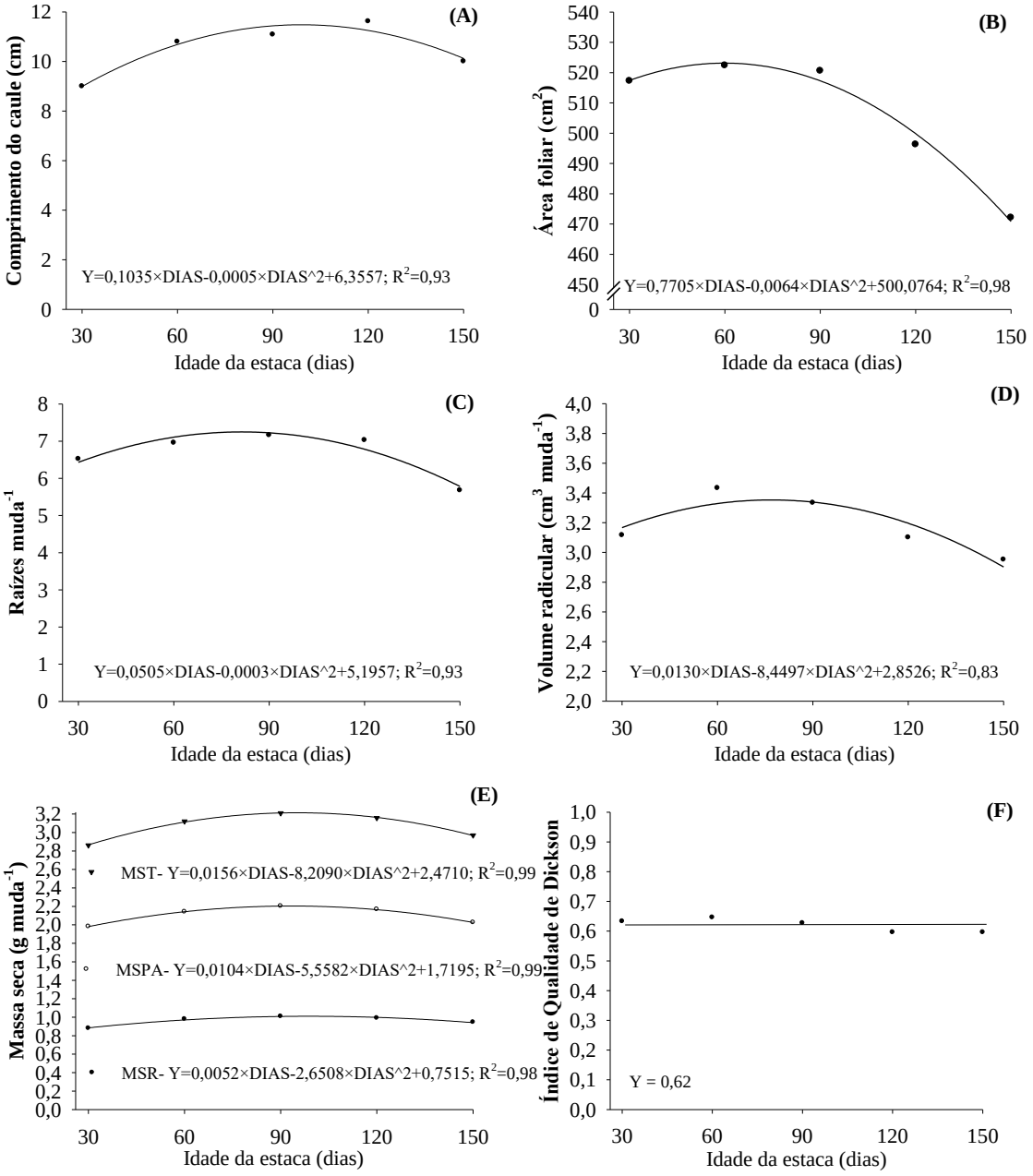

Figura 3 – Características vegetativas de mudas de cafeeiros Robusta, aos 125 DAE, formadas a partir de estacas com diferentes idades de formação. Comprimento do caule (A); área foliar (B); número de raízes (C); volume do sistema radicular (D); massa seca da parte aérea, sistema radicular e total (E) e índice de qualidade de Dickson (F) de mudas.

2.4 Discussão

Acúmulo de massa seca e taxas de crescimento

As curvas de acúmulo de massa seca e de crescimento indicam que o desenvolvimento das mudas em viveiro é dividido em 3 fases distintas. Na fase inicial, até 83 DAE, há reduzidas taxas de crescimento e, consequentemente, baixo acúmulo de massa seca pelas mudas. Esse reduzido crescimento é consequência da falta de raízes absorventes para retirada de água e nutrientes do substrato, e, por isso, essa fase é considerada como a fase crítica para propagação vegetativa pelo método da estaquia (LIMA et al., 2006). Além disso, como a disponibilidade de carboidratos influencia na velocidade de enraizamento (LIMA et al., 2011), as mudas direcionam suas reservas para formação de raízes adventícias, o que ocasiona reduzido acúmulo de massa da parte aérea.

Na fase intermediária, 83 entre 125 DAE, observa-se intenso crescimento e acúmulo de massa. Neste período, o sistema radicular já esta estabelecido, o que permite a absorção de água e nutrientes pelas mudas (CARDOSO et al., 2011), contribuindo para o crescimento da parte aérea. Com o desenvolvimento da parte área, além das reservas de carboidratos e compostos nitrogenados provenientes da absorção pelo sistema radicular, as mudas iniciam a produção de açúcar (PEIXOTO e PEIXOTO, 2009; PEIXOTO et al., 2011). Assim, tanto os nutrientes provenientes da absorção pelo sistema radicular, quanto os açucares produzidos com a fotossíntese são direcionados para o crescimento das mudas.

A última fase, após o 125º dia, é marcada por estabilização no crescimento das mudas. Este comportamento provavelmente está relacionado com a limitação física imposta pelo recipiente e pelo substrato. Isso porque, apesar do fornecimento de nutrientes via aplicação de fertilizantes continuar promovendo crescimento, a limitação física imposta pelo volume do tubete de 280 cm^{-3} resulta em confinamento excessivo do sistema radicular em períodos longos no viveiro (REZENDE et al., 2010; ESPINDULA et al., 2018). Tal fato, pode resultar em problemas futuros quando as mudas forem levadas para o plantio no campo.

Apesar das curvas de crescimento serem semelhantes, as idades de formação da estaca promoveram diferentes intensidades e picos crescimento. Este resultado pode estar envolvido com o conteúdo de carboidratos disponível em cada tipo de estaca. Isso

porque, ao longo da haste ortótropica forma-se um gradiente de concentração, sendo menor na região próxima ao ápice e maior na região próxima à base (HUSEN e PAL, 2007; CUNHA et al., 2015). No entanto, outros fatores como balanço hormonal (HARTAMANN et al., 2011) e estabilidade/reversibilidade dos tecidos (MAYER et al., 2006) podem estar associados à velocidade de crescimento das mudas, resultando em diferentes taxas e, consequentemente, picos de crescimento ao longo do período de formação das mudas.

Neste caso, o crescimento inicial mais lento das mudas formadas a partir de estacas com 30 dias de idade pode ser resultado da reduzida reserva de carboidratos destas estacas. No entanto, apesar do crescimento inicial lento, essas mudas compensaram o seu crescimento com aumento nas taxas de crescimento absoluto e relativo (83 a 125 DAE). Tal compensação tende a resultar em mudas com massas seca semelhantes ao final do ciclo de formação, caso o período de permanência no viveiro seja estendido para mais de 146 dias. Porém, para maior eficiência na produção de mudas (mudas em menor tempo) as estacas formadas desta região apical da haste, 30 dias de idade, não seriam adequadas, uma vez que antes de 125 dias no viveiro, tais mudas apresentam baixo acúmulo de massa seca.

Características vegetativas das mudas aos 125 dias após o estaqueamento

O maior desenvolvimento apresentado pelas mudas oriundas de estacas com 90 dias de idade esta relacionado à condição fisiológica desse propágulo vegetativo. Isso porque, as estacas com 90 dias de idade foram retiradas da região mediana da haste ortotrópica, região da haste que apresenta maior equilíbrio nutricional, hormonal e lignificação dos tecidos (REZENDE et al., 2010). De maneira geral, mudas propagadas via estaquia apresentam maiores valores para características vegetativas quando são utilizadas estacas com idades intermediárias (HUSEN; PAL, 2007; PAULINO et al., 2011; COELHO; AZEVEDO, 2016).

De maneira diferente, mesmo apresentando comportamento similar quanto ao crescimento (Figura 2), a condição fisiológica das estacas com 30 e 150 dias de idade influenciou negativamente nos atributos vegetativos das mudas. Isso porque, as estacas com 150 dias de idade foram retiradas de segmentos da região basal da haste, que apresentam grande quantidade de carboidratos, porém, geralmente, os tecidos estão

muito lignificados, o que pode dificultar ou impedir o enraizamento das estacas (REZENDE et al., 2010; PAULINO et al., 2011). Por outro lado, as estacas produzidas a partir da região apical, como as de 30 dias de idade, apesar de apresentarem alta concentração de auxina, hormônio essencial para o enraizamento, dispõem de baixa reserva de carboidratos, o que pode levar a baixas taxas de sobrevivência, devido à exaustão de reservas. Além disso, essas estacas apresentam maior predisposição a desidratação em função da perda de umidade para o ambientem devido ao seu menor diâmetro (COELHO e AZEVEDO, 2016; SANTOS et al., 2016).

Com relação o índice de qualidade de Dickson (IQD) a idade de formação das estacas não influenciou na qualidade final das mudas, apresentando valor médio de 0,62. Este valor está próximo aos recomendados para mudas de cafeeiros canéfora cujos valores variaram de 0,5 e 0,6 (BALBINO, 2016). O IQD é um indicador de qualidade e robustez das mudas, levando em consideração a distribuição da massa seca entre o sistema radicular e a parte aérea. Apenas o IQD não é um indicador para definir o padrão de qualidade para mudas de cafeeiro canéfora, pois embora tenha apresentado valor médio de 0,62, a condição fisiológica das estacas de 30 e 150 dias influenciaram negativamente as características vegetativas.

2.5 Conclusões

Independentemente do estádio de maturação das estacas, o crescimento das mudas de *C. canephora* pode ser dividido em três fases: 1) Inicial: crescimento lento, caracterizado pela ausência de raízes absorventes e pela dependência das reservas da estaca, com duração de até 83 dias; 2) Intermediária: de rápido crescimento, impulsionado pela capacidade do sistema radicular em absorver água e nutrientes do substrato, com duração de aproximadamente 40 dias; 3) Final: de crescimento lento, condicionado pela limitação física e química do substrato e, ou recipiente, que tem início aproximadamente 125 dias após o estaqueamento.

Mudas formadas a partir de estacas com 30 dias e 150 dias de idade resultam em curvas de crescimento semelhantes as demais estacas, porém, com intensidades e picos de crescimento diferentes. Em razão disso, as mudas formadas a partir dessas estacas apresentam menores valores para os atributos vegetativos, aos 125 dias após o

estaqueamento, tempo médio de formação das mudas clonais de *C. canephora* nas condições climáticas da Amazônia.

REFERÊNCIAS

ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; GONÇALVES, J. L. M.; SPAROVEK, G. Koppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, Stuttgart, v.22, p.711-728, 2013.

BALBINO, T. J. **Substratos alternativos para a produção de mudas clonais de *Coffea canephora* em tubete**. 2016. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade Federal de Rondônia, Rolim de Moura, RO, 2016.

CARDOSO, C.; YAMAMOTO, L. Y.; PRETI, E. A.; ASSIS, A. M.; NEVES, C. S. V. J.; ROBERTO, S. R. AIB e substratos no enraizamento de estacas de pessegueiro 'Okinawa' coletadas no outono. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.32, p.986-991, 2011.

CHAGAS, E. A.; BACELAR-LIMA, C. G.; CARVALHO, A. S.; RIBEIRO, M. I. G.; SAKAZAKI, R. T.; NEVES, L. C. Propagação de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mcvaugh). **Revista Agro@,** Boa Vista, v.6, n.1, p. 67-73, 2012.

COELHO, M. F. B.; AZEVEDO, R. A. B. Efeito do tipo de estaca na propagação de *Turnera subulata*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.34, n.3, p.435-438, 2016.

CUNHA, A. L. B.; CHAVES, F. C. M.; BATISTA, A. C.; HIDALGO, A. F. Propragação vegetativa de estacas de *Piper hispidum* Sw. Em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Campinas, v.17, n.4, p.685-692, 2015.

DIAS, J. R. M.; SILVA, E. D. A.; GONÇALVES, G. S.; SILVA, J. F.; SOUZA, E. F. M.; FERREIRA, E.; STACHIW, R. Enraizamento de estacas de cafeeiro imersas em extrato aquoso de tiririca. **Coffee Science**, Lavras, v.7, n.3, p.259-266, 2012.

DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F.; Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **Forest Chronicle**, Mattawa, v.36, p.10-13, 1960.

ESPINDULA, M. C.; BALBINO, T. J.; JARACESKI, R.; TEIXEIRA, A. L.; DIAS, J. R. M.; TEIXEIRA, R. G. P. Different volumes os tubes for clonal propagation of *Coffea canephora* from seedlings. **Coffee Science**, Lavras, v.13, v.1, p.33-40, 2018.

ESPINDULA, M. C.; MAURI, A. L.; RAMALHO, A. R.; DIAS, J. R. M.; FERREIRA, M. G. R.; SANTOS, M. R. A.; MARCOLAN, A. L. Produção de mudas. In: MARCOLAN, A.; ESPINDULA, M. C. **Café na Amazônia**. Brasília: Embrapa, p.129-154, 2015.

FERREIRA, A. D.; MENDES, A. N. G.; GUIMARÃES, R. J.; CARVALHO, A. M.: PINTO, M. F. Índices fisiológicos de mudas de *coffea arabica* L. enxertadas sob *Coffea canephora*. **Coffee Science**, Lavras, v.4, n.1, p.27-34, 2009.

FERREIRA, O. G.; ROSSI, F. D.; ANDRIGHETTO, C. **DDA: Determinador digital de Áreas – Software para determinação de área foliar, índice de área foliar e área de olho de lombo – Versão 1.2.** Santo Augusto: IFFaroupilha. 2008.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JR, F. T.; GENEVE, R. L. **Hartmann and Kester's PLANT PROPAGATION**: Principles and pratices. Boston: Prentice Hall. 8ed. 2011. 915 p.

HENRIQUE, P. C.; ALVES, J. D.; DEUNER, S.; GOULART, P. F. P.; LIVRAMENTO, D. E. Aspectos fisiológicos do desenvolvimento de mudas de café cultivadas sob telas de diferentes colorações. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n.5, p.458-465, 2011.

HUSEN, A.; PAL, M. Effect of branch position and auxin treatment on clonal propagation of *Tectona grandis* Linn. f. **New Forests**, Nova York, v.34, p.223-233, 2007.

JESUS, A. M. S.; CARVALHO, S. P.; CASTRO, E. M.; GOMES, C. N. Observações anatômicas em plantas de *Coffea arabica* L. obtidas por enraizamento de estacas. **Revista Ceres**, Viçosa, v.57, n.2, p.175-180, 2010.

LIMA, D. M.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; BONA, C.; MAYER, J. L. S. Capacidade de enraizamento de estacas de *Maytenus muelleri* Schwacke com a aplicação de ácido indol butírico relacionada a aspectos anatômicos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.13, n.4, p.422-438, 2011.

LIMA, R. L. S.; SIQUEIRA, D. L.; WEWBER, O. B.; CAZETTA, J. O. Comprimento de estacas e parte do ramo na formação de mudas de aceroleira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.28, n.1, p.83-86, 2006.

MARCOLAN, A. L.; RAMALHO, A. R.; MENDES, A. M.; TEIXEIRA, C. A. D.; FERNANDES, C. F.; COSTA, J. N. M.; VIEIRA JÚNIOR, J. R.; OLIVEIRA, S. J. M.; FERNANDES, S. R.; VENEZIANO, W. Cultivo dos cafeeiros Conilon e Robusta para Rondônia. Rondônia: Embrapa, 2009.

MAYER, J. L. S.; BIASI, L. A.; BONA, C. Capacidade de enraizamento de estacas de quatro cultivares de *Vitis* L. (vitaceae) relacionada com os aspectos anatômicos. **Acta Botânica Brasileira**, Belo Horizonte, v.20, n.3, p.563-568, 2006.

OLIVEIRA, R. J. P.; AIRES, R. F.; CAMPOS, A. D. Teores de carboidratos em estacas lenhosas de mirtileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.34, n.4, p.1199-1207, 2012.

PARTELLI, F. L.; VIEIRA, H. D.; SANTIAGO, A. R.; BARROSO, D. G. Produção e desenvolvimento radicular de plantas de café 'Conilon' propagadas por sementes e por estacas. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.6, p.949-954, 2006.

PAULINO, R. C.; HENRIQUES, G. P. S. A.; MAIA, S. S. S.; COELHO, M. F. B. Diferentes tipos de estacas e de substratos na propagação vegetativa de xanana (*Turnera subulata Sm*). **Revista Verde**, Mossoró, v.6, n.4, p.234-237, 2011.

PEIXOTO, C. P.; CRUZ, T. V.; PEIXOTO, M. F. S.; Análise quantitativa do crescimento pelas plantas: Conceitos e Prática. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Cientifico Conhecer – GO, v.7, n.13, p.51-76, 2011.

RAMALHO, A. R.; ROCHA, R. B.; SOUZA, F. F.; VENEZIANO, W.; TEIXEIRA, A. L. Progresso genético da produtividade de café beneficiado com a seleção de clones de cafeeiro 'Conilon'. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.47, n.3, p.516-523, 2016.

REZENDE, T. T.; BALIZA, D. P.; OLIVEIRA, D. H.; CARVALHO, S. P.; ÁVILA, F. W.; PASSOS, A. M. A.; GUIMARÃES, R. J. Types of stem cuttings and environments on the growth of coffee stem shoots. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.11, n.5, p.387-391, 2010.

ROSA, G. G.; ZANANDREA, I.; MAYER, N. A.; BIANCHI, V. J. Propagação de porta-emxerto de *Prunus spp*. Por estaquia: efeito do genótipo, do estádio de desenvolvimento do ramo e do tipo de estaca. **Revista Ceres**, Viçosa, v.64, n.1, p.90-97, 2017.

SANTOS, R. G.; SOUZA, I. M.; ALBUQUERQUE, C. C.; SILVA, K. M. B. Tipo de estaca e substrato na propagação vegetativa de *Lippia gracilis Schauer*. **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo, v.83, p.1-4, 2016.

SOUZA, F. F.; FERRÃO, L. V. V.; CAIXETA, E. T.; SAKIYAMA, N. S.; PEREIRA, A. A.; OLIVEIRA, A. C. B. Aspectos gerais da biologia e da diversidade genética de *Coffea canephora*. (Ed.). In: MARCOLAN, A. L.; ESPINDULA, M. C. **Café na Amazônia**. Brasilia: Embrapa, 2015, p.85-98.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. Tradução Alessandra Antunes Mastroberti... et al]; Revisão técnica: Paulo Luiz de Oliveira. 6. Edição. Porto Alegre: Artmed, 2017, 690p.

VERDIN FILHO, A. C.; MAURI, A. L.; VOLPI, P. S.; FONSECA, A. F. A.; FERRÃO, R. G.; FERRÃO, M. A. G.; RODRIGUES, W. N.; ANDRADE JÚNIOR, S. A.; COLODETTI, T. V. Growth and quality of clonal plantlets of Conilon coffee (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) influenced by types of cuttings. **American Journal of Plant Sciences**, Canadá, v.5, p.2148-2153, 2014.

3 CONTEÚDO DE MACRONUTRIENTES E ANATOMIA DA ESTACA PARA A PRODUÇÃO DE MUDAS CLONAIS DE CAFEEIROS ROBUSTA

RESUMO

Características intrínsecas dos propágulos vegetativos destinados a produção de mudas influenciam na capacidade e velocidade de enraizamento. Nesse contexto, o objetivo neste trabalho foi avaliar a variação no conteúdo dos macronutrientes e a anatomia dos tecidos de estacas de cafeeiros "Robusta" com diferentes idades de formação, destinadas a propagação vegetativa. O experimento foi constituído de cinco tratamentos, que se referem à idade de formação do propágulo vegetativo na planta matriz (30, 60, 90, 120 e 150 dias) selecionados a partir da primeira estaca do ápice que apresentavam dois ramos plagiotrópicos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com cinco repetições. Foram avaliados a massa seca da estaca, os teores e conteúdos de macronutrientes dos tecidos, bem como as características anatômicas: espessura do xilema, espessura do floema, espessura da epiderme e espessura do cilindro vascular. Com o envelhecimento da estaca os teores de N, P, K, Mg e S diminuem e o teor de Ca aumenta. Porém, o conteúdo dos nutrientes tendem a aumentar, devido ao maior acúmulo de massa seca na estaca. As idades de formação das estacas influenciam na anatomia dos tecidos dérmico, vascular e fundamental, não apresentando impedimento ao enraizamento adventício.

Palavras-chave: *Coffea canephora*, propágulos vegetativos, maturidade dos tecidos, qualidade de mudas.

ABSTRACT

Intrinsic characteristics of vegetative seedlings intended for seedling production influence rooting capacity and speed. In this context, the objective of this work was to evaluate the variation in macronutrient content and tissue anatomy of "Robusta" coffee cuttings with different ages of formation, intended for vegetative propagation. The experiment consisted of five treatments, which refer to the age of formation of the vegetative propagule in the mother plant (30, 60, 90, 120 and 150 days) selected from the first apex stake that had two plagiotropic branches. The experimental design was completely randomized (DIC) with five replications. The dry mass of the cut, the macronutrient contents and contents of the tissues, as well as the anatomical characteristics were evaluated: xylem thickness, phloem thickness, epidermis thickness and vascular cylinder thickness. With the aging of the cuttings the N, P, K, Mg and S contents decrease and the Ca content increases. However, nutrient content tends to increase due to higher dry mass accumulation in the stake. The ages of cut formation influence the anatomy of dermal, vascular and fundamental tissues, not presenting impediment to adventitious rooting.

Keywords: *Coffea canephora*. Vegetative propagules. Maturity of tissues. Quality of seedlings.

3.1 Introdução

A propagação vegetativa por meio da estaquia é a principal técnica utilizada para a produção de mudas clonais de *Coffea canephora* (VERDIM FILHO et al, 2014; AQUINO et al., 2017). Neste sistema, a porcentagem de enraizamento das estacas pode passar de 95% (BERGO e MENDES, 2000; JESUS et al., 2013) e as perdas durante o período de formação de mudas podem ser menores que 15%, se seguidas as recomendações técnicas da cultura.

A capacidade do propágulo vegetativo emitir raízes (processo de enraizamento adventício) é resultado da interação entre as condições ambientais (luz, água e substrato) e fatores intrínsecos a estaca (REZENDE et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2012). Dentre os fatores inerentes ao propágulo vegetativo, destaca-se o estado nutricional da estaca, sendo fator determinante para o enraizamento e crescimento das raízes, pois determinará a quantidade de carboidratos, hormônios e compostos metabólicos (CUNHA et al., 2009).

No contexto nutricional, o teor de nutrientes expressa a quantidade relativa dos nutrientes no tecido vegetal (massa por massa), mas não representa o conteúdo total de nutrientes acumulado num determinado órgão, por não considerar o total de massa seca acumulado. Por isso, para o caso de propagação vegetativa, além do teor dos nutrientes, também é importante conhecer o conteúdo de nutrientes acumulado no propágulo, uma vez que, esta informação remete a quantidade global de nutrientes armazenados no propágulo.

A quantidade de reserva efetiva de um determinado nutriente no propágulo vegetativo resulta em maior ou menor disponibilidade de tal nutriente durante o processo de enraizamento, uma vez que a iniciação do primórdio radicular é influenciado primariamente pelos nutrientes disponíveis no tecido vegetal (CUNHA et al., 2009). Sendo assim, as estacas mais maduras, de maiores diâmetros, possuem maiores reservas de carboidratos e nutrientes em relação a estacas mais jovens, do ápice caulinar, podendo assim resultar em maior vigor no enraizamento (HARTMANN et al., 2011; PAULINO et al., 2011; DIAS et al., 2013).

Apesar de estacas mais velhas, serem mais maduras e, portanto, apresentarem maiores teores de carboidratos, estas estacas também possuem tecidos mais estáveis, de menor reversibilidade e com menor liberação de alguns nutrientes (LIMA et al., 2011).

O cálcio (Ca^{2+}), por exemplo, apesar de apresentar alta concentração nos tecidos mais velhos, apresenta baixa mobilidade nos tecidos em razão de sua função estrututal/apoplástico no qual o Ca^{2+} se liga a grupos ácidos de lipídeos da membrana (TAIZ et al., 2017).

Além da disponibilidade de nutrientes, a estrutura interna do caule também influencia o enraizamento de estacas. O alto grau de lignificação das estacas é prejudicial à emissão das raízes, dificultando e até impedindo o processo de enraizamento (FACHINELLO et al., 2005), uma vez que a formação de raízes em estacas de plantas com crescimento secundário originam-se em tecidos do floema, nos raios vasculares, no câmbio ou a partir de calos produzidos na base da estaca (HARTMANN et al., 2011). Além disso, algumas espécies apresentam feixes de fibras com paredes celulares espessas, que envolvem o floema secundário do caule e podem formar uma camada esclerenquimática, cuja continuidade é inversamente proporcional à capacidade de enraizamento das estacas (JESUS et al., 2010). Por isso, a identificação dos aspectos estruturais da estaca é importante para o sucesso da propagação, que é dependente da regeneração dos tecidos vegetais.

O objetivo neste trabalho foi avaliar o conteúdo de macronutrientes e a anatomia dos tecidos de estacas de cafeeiros Robusta com diferentes idades de formação, destinadas a propagação vegetativa.

3.2 Material e Métodos

O estudo foi conduzido com propágulos vegetativos de cafeeiros *Coffea canephora* ‘Robusta’ oriundos de plantas matrizes pertencentes ao programa de melhoramento genético de *canephora* da Embrapa Rondônia. As matrizes estavam implantadas no Campo Experimental da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, no município de Ouro Preto do Oeste, Rondônia, (longitude 10˚45’43” S, latitude 62˚15’10” W e altitude de 300 m). As plantas estavam com cinco anos de idade e estavam sendo conduzidas seguindo as recomendações técnicas para cultura (MARCOLAN et al., 2009).

Os propágulos vegetativos foram constituídos por segmentos caulinares (estacas), obtidas de hastes ortotrópicas secundárias (brotos) dos cafeeiros. Os segmentos caulinares foram destacados de sua haste original por meio de um corte reto

na parte superior, 1 cm acima da inserção dos ramos plagiotrópicos e um corte reto 5 cm abaixo do nó (inserção das folhas). Os ramos plagiotrópicos foram eliminados e as folhas remanescentes na estaca tiveram seu comprimento reduzido em 2/3 do total para reduzir a perda de água e evitar a desidratação (DIAS et al., 2012). Os propágulos vegetativos foram coletados em novembro de 2017.

O experimento foi constituído de cinco tratamentos, que se referem à idade de formação do propágulo vegetativo na planta matriz (30, 60, 90, 120 e 150 dias) selecionados a partir da primeira estaca do ápice que já tinham emitido dois ramos plagiotrópicos. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com cinco repetições.

Para obtenção das estacas caulinares com diferentes idades de formação foram utilizadas hastes ortotrópicas com 150 dias de idade, retiradas do terço médio da planta matriz. Estas hastes apresentavam cinco segmentos nodais com um par de folhas completamente expandido, no qual, foram seccionados em cinco partes considerando sua posição no ramo e o tempo de crescimento. Assim, o primeiro segmento, formado a partir da região basal da haste, compôs a estaca com 150 dias de idade; o segmento formado logo acima, na parte semi-basal, compôs a estaca com 120 dias de idade; o próximo segmento, formado a partir da região mediana da haste, compôs a estaca com 90 dias de idade; em seguida, o segmento formado da região semi-apical compôs a estaca com 60 dias de idade e o segmento formado logo abaixo do meristema apical compôs a estaca com 30 dias de idade.

O estudo foi desenvolvido em duas etapas, na primeira, foram determinados o conteúdo de massa seca das estacas, os teores de nutrientes nos tecidos e o conteúdo de nutrientes nas estacas. Na segunda etapa, foram realizadas as análises anatômicas dos tecidos das estacas. Ambas as análises realizadas entre agosto e dezembro de 2018.

Massa seca da estaca, teores e conteúdos de nutrientes dos tecidos

Após a individualização das estacas, o material vegetal foi acondicionado em saco de papel e submetido à secagem em estufa de circulação forçada de ar a 65 ºC até atingir massa constante. Posteriormente, foram determinadas a massa seca média da estaca (MSE). Em seguida, as amostras foram moídas e encaminhadas para o

Laboratório de Solos e Plantas da Embrapa Rondônia em Porto Velho-RO, onde foram submetidas as análises dos teores de nutrientes. Utilizou-se o método de digestão química nitroperclórica para os nutrientes P, K, Ca, Mg e S seguida pela determinação analítica por espectrofotometria de plasma para Ca, Mg e S. O P foi determinado por espectrofotometria molecular e o K por fotometria de chama. O N foi obtido por digestão sulfúrica e determinado após destilação por semi-micro Kjeldahl (CARMO et al., 2000).

Os conteúdos dos nutrientes nas estacas foram calculados multiplicando-se os teores dos nutrientes pelo valor da massa seca da estaca (C = MSH × T), em que C = conteúdo do nutriente; MSE = massa seca da estaca (g); e T = teor do nutriente (g kg^{-1}). Os resultados foram expressos miligrama por estaca.

Anatomia dos tecidos

As estacas foram coletadas e fixadas em solução FAA 70 (5 ml de formaldeído, 5 ml de ácido acético e 90 ml de etanol 70%) (JOHANSEN, 1940) por 24 horas e estocadas em etanol 70% em refrigerador à 5°C. Posteriormente, foram encaminhadas para o Laboratório de Germoplasma, Conservação, Genética Molecular e Fisiologia Vegetal-LABGERTVEG do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Rondônia (UNIR), onde as amostras foram desidratadas em série etílica crescente (10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%%, 80%, 90%, 96%, 100%), por 2 horas e submetidas à uma série etanol-xilólica (3:1, 1:1, 1:3, xilol puro, xilol/parafina 1:1), e incluído em parafina, com permanência de um dia em estufa à 50ºC e (KRAUS e ARDUIN, 1997).

Após inclusão, os materiais foram seccionados transversalmente em micrótomo rotativo de avanço automático (Leica RM 2255), utilizando-se navalhas de aço descartável. Os cortes foram obtidos com espessura de 10 µm. Os cortes histológicos foram aderidos à lâmina com adesivo de Haupt (Haupt, 1930). Posteriormente, os cortes foram colocados em estufa a 50 ºC para total expansão do material e retirada do excesso de parafina, em seguida foram incluídos em série xilólica, hidratados em série etílica e submetidos ao processo de coloração com o corante metacromático Azul de Toluidina, pH 4,0, permanecendo no corante por 30 minutos e posterior lavagem a água corrente com agitação do material por um minuto (O'Brien et al., 1964). Após o processo de coloração os cortes foram montados em balsamo do Canadá e lamínula

(BUKATSCH, 1972), sendo examinadas e fotografadas em fotomicroscópio (Leica DM 2500).

Para cada repetição foram confeccionadas cinco lâminas constituídas por seis cortes cada, sendo obtidas cinco imagens por lâmina. Em cada imagem, foram adquiridas cinco medições para cada tecido analisado. Sendo determinada a média final das características em cada repetição a partir de 125 medidas.

As imagens obtidas foram analisadas quantitativamente quanto a espessura do xilema (EX), espessura do floema (EF), e espessura do cilindro vascular (ECV) com auxílio do *software* ImagemJ (SCHNEIDER et al., 2012).

Os dados foram submetidos à análise de regressão utilizando o Software SigmaPlot®. Os modelos matemáticos foram escolhidos levando-se em consideração os maiores valores dos coeficientes de determinação (r^2/R^2), a significância dos coeficientes de regressão (βi) e do teste F da regressão, ambos até 5% de probabilidade, bem como, pelo comportamento do fenômeno biológico.

3.3 Resultados

Massa seca da estaca, teores e conteúdos de nutrientes dos tecidos

O aumento da idade das estacas promoveu incremento exponencial de massa seca nas estacas, partindo de 0,7 g por estaca, nos propágulos mais jovens, e passando para 1,7 g por estaca nos propágulos mais velhos (Figura 4).

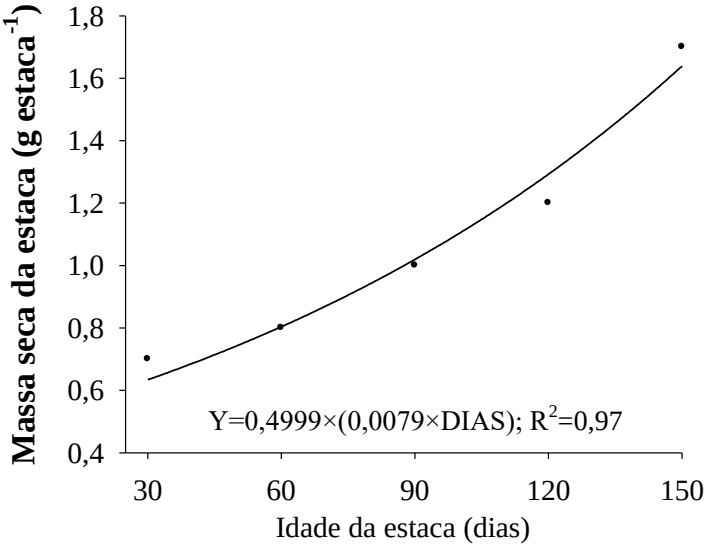

Figura 4 - Massa seca de estacas de diferentes idades de formação utilizadas para a produção de mudas clonais de cafeeiros Robusta.

Os teores dos nutrientes apresentaram comportamento linear em função da idade de formação das estacas. Os nutrientes N, P, K, Mg e S apresentaram comportamento linear decrescente, enquanto o Ca apresentou comportamento linear crescente (Figura 5).

Com relação aos conteúdos de nutrientes nas estacas, todos os nutrientes apresentaram comportamento não linear, do tipo exponencial crescente, em resposta ao aumento da idade da estaca (Figura 6).

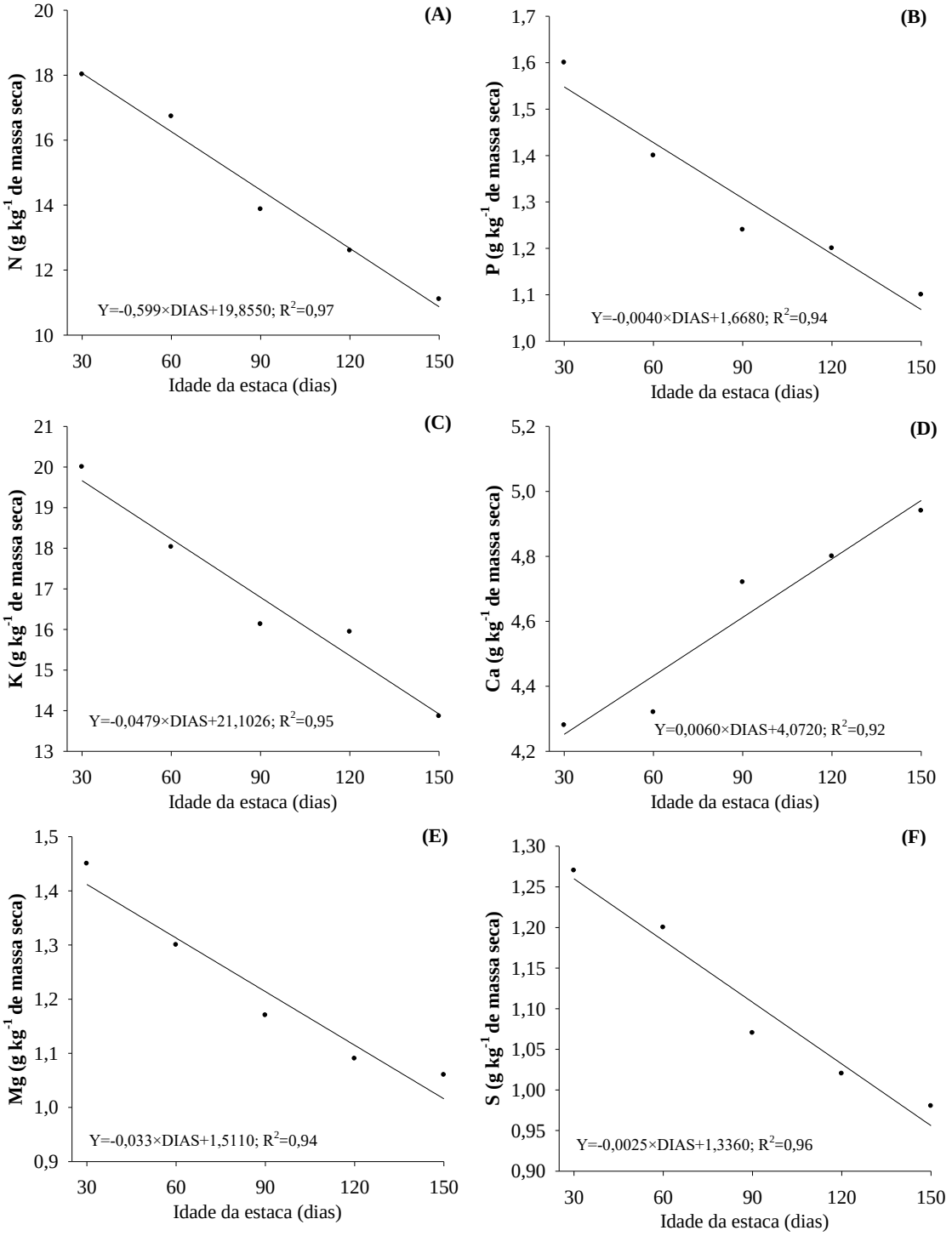

Figura 5 – Teor de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) (g kg^{-1}) em função da idade da estaca utilizada para a produção de mudas de cafeeiro Robusta.

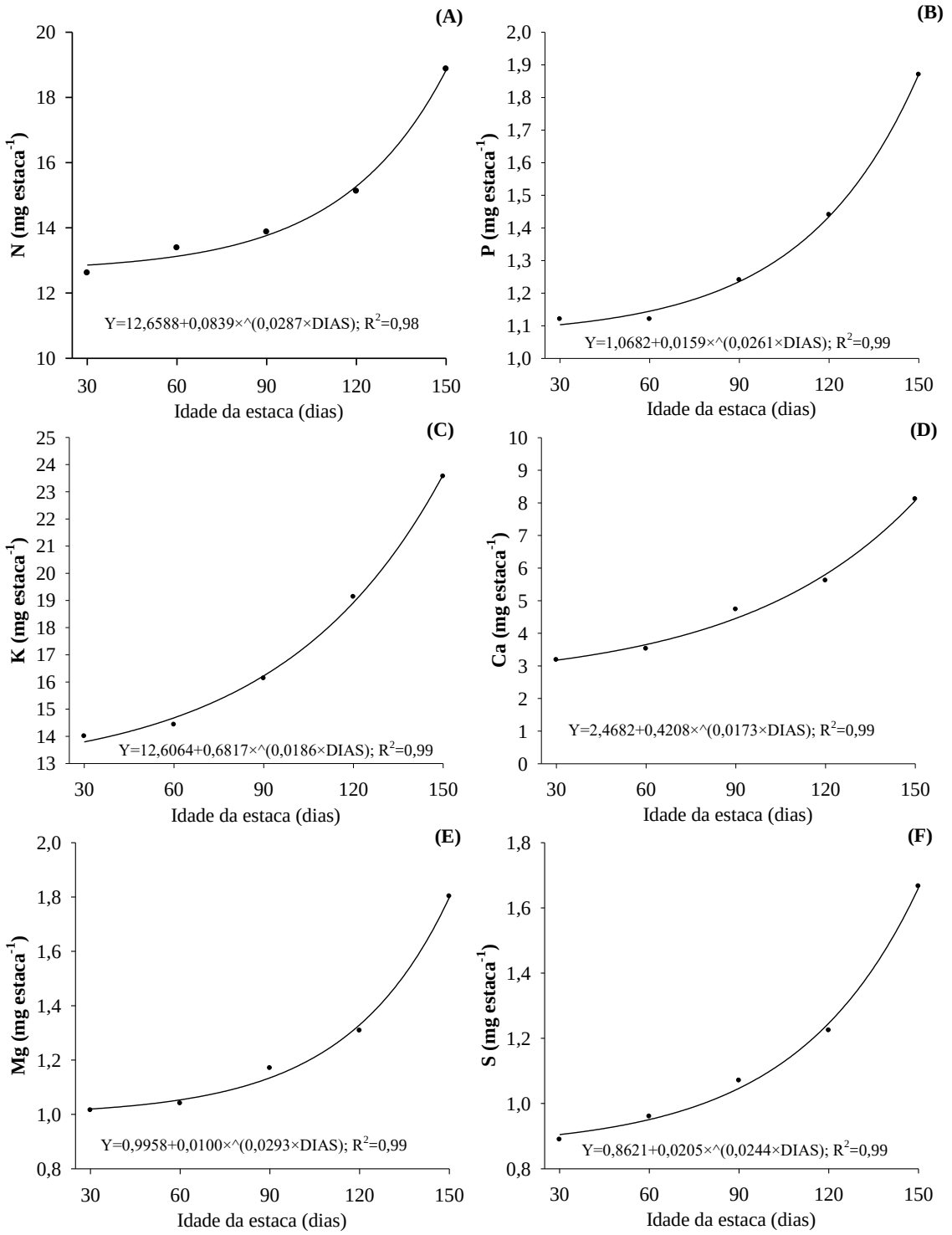

Figura 6 - Conteúdo de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S) (mg estaca^{-1}) em função da idade da estaca utilizada para a produção de mudas de cafeeiro Robusta.

Anatomia dos tecidos

Houve influencia da idade de formação da estaca na espessura de todos os tecidos estudados, exceto para a espessura da epiderme. A espessura do xilema, floema e cilindro vascular apresentaram comportamento linear crescente, ou seja, quanto maior o tempo de formação da estaca, maiores as espessuras destes tecidos. A espessura da epiderme não apresentou comportamento ajustado a nenhum modelo matemático, sendo adotado o valor médio de 221 µm para todas as estacas, independentemente da idade de formação (Figura 7D).

As células epidérmicas apresentaram formato arredondado nas estacas mais jovens, com 30 e 60 dias de idade, as quais ainda se caracterizam como tecido de revestimento e proteção. Nas demais estacas ainda foi possível notar a presença de epiderme, porém, com células compactadas, não tão aparentes como nas estacas jovens. No entanto, nas estacas com 120 e 150 dias de idade, foi possível observar fragmentação da epiderme, caracterizando o crescimento primário em transição para crescimento secundário (Figura 8J).

No centro das estacas foi observada a presença de medula parenquimática (M) (Figura 8) exibindo o mesmo padrão de células isodiamétricas, com paredes finas em todas as estacas, porém, apresentando diferentes espessuras do parênquima medular.

O córtex (Ct) apresenta células parenquimáticas isodiamétricas, com paredes finas, que tem como função o preenchimento e em alguns casos o acúmulo de reservas paras as células. Observou-se também formação de uma faixa de células de fibras descontínuas (tecido esclerenquimático) do floema abaixo do parênquima cortical nas estacas mais jovens, 30, 60 e 90 dias, (Figuras 8B, D e F) e maiores quantidades de células e a formação de novas faixas em estacas mais velhas, 120 e 150 dias, (Figura 8H e J). Estas células possuem paredes mais espessas e lignificadas, tido como um tecido de sustentação, que fornece, além de sustentação, proteção ao feixe vascular formado por floema (Fl) e Xilema (Xi).

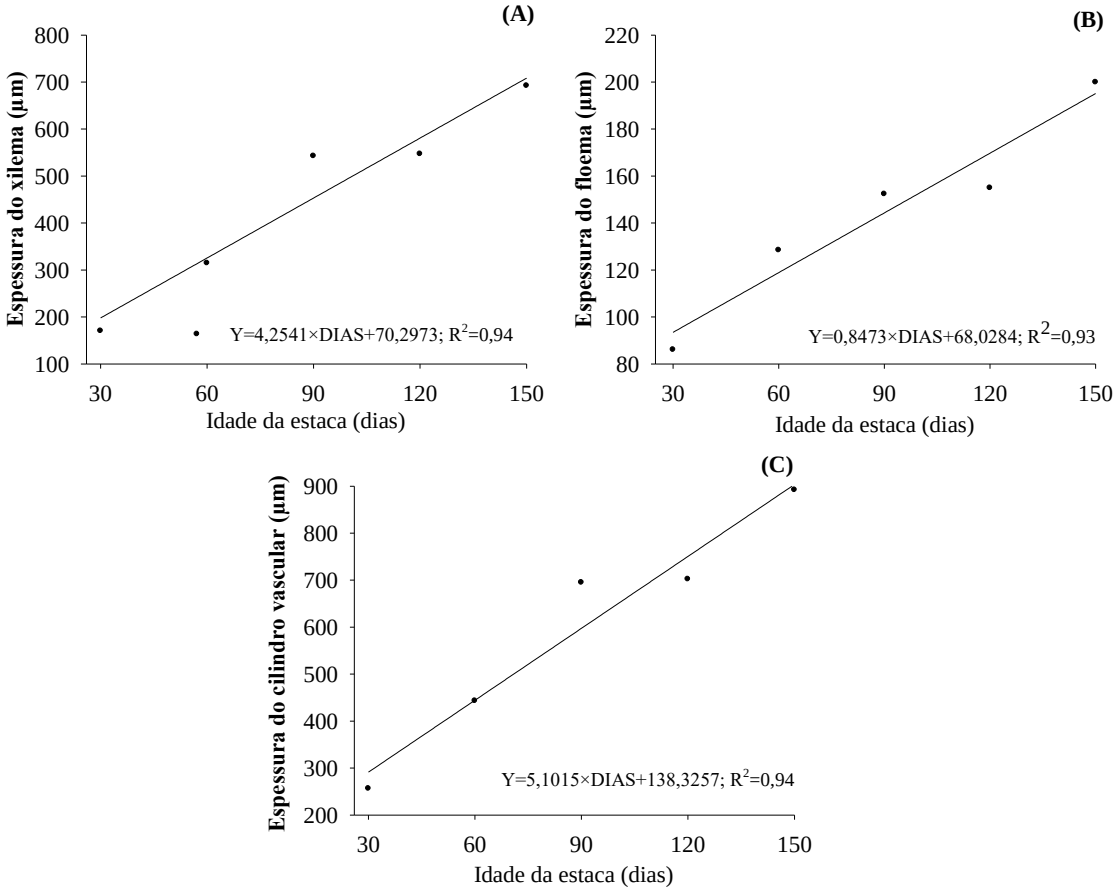

Figura 7 - Espessura do xilema (A); espessura do floema (B); espessura do cilindro vascular (C) em µm, em função da idade da estaca utilizada para a produção de mudas de cafeeiro Robusta.

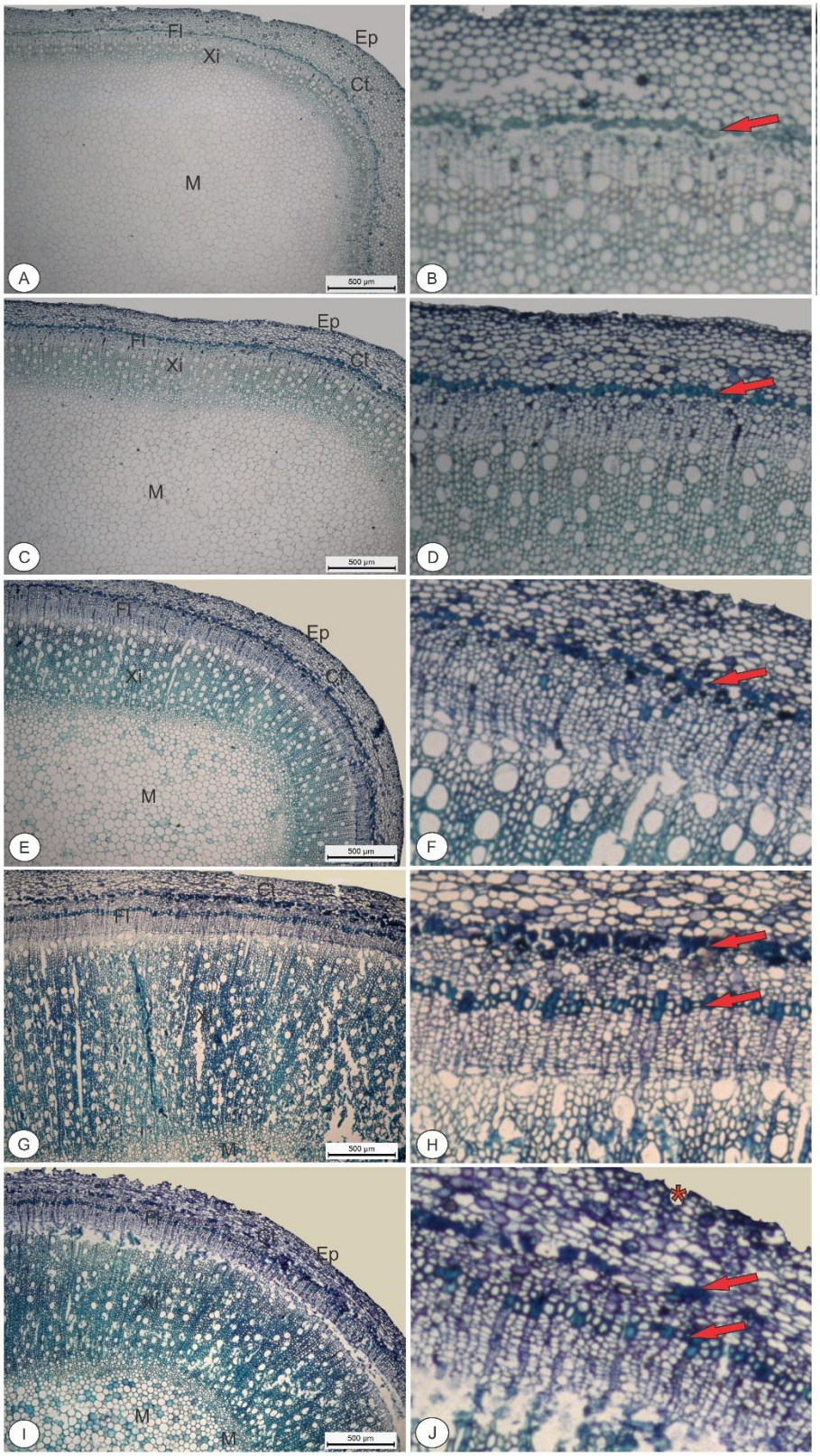

Figura 8 – Anatomia de estacas de diferentes idades utilizada para a produção de mudas de cafeeiro Robusta. Estacas com 30 dias (A-B); 60 dias (C-D); 90 dias (E-F); 120 dias (G-H) e 150 dias (I-J). Ep: epiderme; Ct: parênquima cortical; Xi: xilema; Fl: floema; M: medula. Setas vermelhas indicam células esclerenquimáticas. * = inicio de crescimento secundário.

3.4 Discussão

Massa seca da estaca, teores e conteúdos de nutrientes dos tecidos

A condição nutricional e a quantidade de carboidratos são fundamentais para o enraizamento adventício. As quantidades de nutrientes acumuladas variam em função do genótipo, da interação com o ambiente, e a partição destes depende da matéria seca acumulada. Logo, as condições intrínsecas da estaca são governadas pelo estádio de maturação destas (HARTMANN et al., 2011), que, por sua vez, depende da idade de formação.

A redução dos teores de nutrientes N, P, K, Mg e S em função do aumento da idade de formação das estacas (Figura 5) está relacionada a produção de massa seca (Figura 4). Isso ocorre, porque a velocidade de acúmulo de compostos de carbono (carboidratos estruturais) em função da produção de biomassa é superior à velocidade de translocação dos nutrientes (PREZOTTI E BRAGANÇA, 2013). Assim, como o acúmulo de biomassa e o acúmulo de nutrientes são fatores dependentes, um está em função do outro (DUBBERSTEIN et al., 2016), a produção de massa seca tende a diluir os teores de nutrientes.

A presença de nutrientes em níveis adequados podem influenciar na velocidade de enraizamento em razão do papel que estes desempenham nas etapas de enraizamento adventício (HARTMANN et al., 2011; GOULART et al., 2014). O N, P, Mg e S são elementos que participam de vários processos metabólicos durante o enraizamento e, além disso, estes nutrientes são essenciais no metabolismo de carboidratos, no qual são fontes de energia para a iniciação dos primórdios radiculares. A alta relação carbono/ nitrogênio (C/N), por exemplo tem se correlacionado positivamente com o enraizamento (HARTMANN et al., 2011), enquanto, o P é requerido nas conversões enzimáticas que degradam o carboidrato. Já o Mg e S participam como fonte de energia a partir da respiração e pela síntese de proteínas e aminoácidos (CUNHA et al., 2009).

O principal papel do K no enraizamento de estacas está relacionado a manutenção da turgescência celular no início do processo de rizogênese. Pois, a perda de água pode ser prejudicial ao processo, podendo até levar a total desidratação das estacas antes da formação das raízes (CUNHA et al., 2009).

O cálcio segue dinâmica contraria aos demais macronutrientes, pois, devido sua função estrutural no crescimento dos tecidos vegetais, tanto sua concentração quanto seu conteúdo tendem a aumentar com a idade da estaca. O cálcio é constituinte da

lamela média, onde se liga com as pectinas, conferindo sustentação e rigidez a planta (TAIZ et al., 2017). Por isso, quanto mais maduro o tecido, maior será a quantidade de cálcio presente e maior será a rigidez do tecido.

Anatomia dos tecidos

Em dicotiledôneas como o *Coffea* sp. os tecidos vasculares secundários são responsáveis pelo aumento de espessura em consequência da adição lateral de tecidos novos ao corpo primário (EVERT, 2013). À medida que estes tecidos vão se desenvolvendo, o amido presente nas células do parênquima medular (reserva) é utilizado na divisão, alongamento e diferenciação dos tecidos. Dessa forma é possível predizer que a configuração do parênquima medular (Figura 8) está relacionada ao tempo de maturação das estacas, pois, quanto maior a idade de formação da estaca na planta matriz menor foi a espessura do parênquima medular e maior a espessura dos vasos condutores do xilema e floema (Figura 7) em função do seu estágio de desenvolvimento fenológico.

A fragmentação das células da epiderme nas estacas mais maduras (120 e 150 dias de idade) indica transição do crescimento primário para secundário dos caules para formação da periderme, o que é resultado da atividade cambial devido ao aumento da espessura dos tecidos vasculares (GLÓRIA & GUERREIRO, 2006). Além disso, a presença da periderme em caules é uma característica comum em espécies com crescimento secundário como café, funcionando como proteção para as suas estruturas internas e não impondo limitações ao enraizamento de estacas (PIMENTA et al., 2017).

A presença de células de tecido esclerenquimático, ocorrendo em faixas não-contínuas ao redor dos tecidos vasculares (Figura 8), atuam fornecendo sustentação e proteção. No entanto, ficou evidente que formação de células e faixas esclerenquimáticas é acompanhada pelo processo de maturação do caule, pois as estacas mais jovens (30, 60 e 90 dias de idade) apresentaram menor quantidade dessas células (Fibras), formando apenas uma faixa ao redor dos tecidos vasculares, enquanto nas estacas mais maduras (120 e 150 dias de idade) pôde ser observada a presença de duas faixas de células esclerenquimáticas (Figura 8). Processo similar ocorre com os feixes vasculares que possuem menor espessura nas estacas mais novas devido ao tecido ainda estar em formação.

Em um estádio mais avançado, camada de células esclerenquimáticas poderia vir a representar uma barreira física para emissão de raízes adventícias em função do maior

grau de lignificação (espessamento da parede) e do seu arranjo em forma de uma bainha esclerenquimática contínua (WENDLING et al., 2014). Neste caso, mesmo as estacas mais velhas (maior diâmetro) apresentando maiores reserva de carboidratos solúveis, a lignificação dos tecidos influenciaria negativamente no processo de enraizamento e sobrevivências dessas estacas (PACHECO e FRANCO, 2008), uma vez que a origem das raízes adventícias em estacas cafeeiras são as células próximas ao cambio vascular (JESUS et al., 2010). Porém não foi observado impedimento ao enraizamento das estacas no presente trabalho-

2.5 Conclusões

Conforme os propágulos vegetativos ficam maduros (velhos) os teores de N, P, K, Mg e S diminuem e o teor de Ca aumenta. Porém, para todos os macronutrientes, o conteúdo tendem a aumentar com o aumento da idade, devido ao maior acúmulo de massa seca na estaca.

As idades de formação das estacas influenciam na anatomia dos tecidos dérmico, vascular e fundamental, não apresentando impedimento ao enraizamento adventício.

REFERÊNCIAS

AQUINO, L. P.; SCHIMIDT, R.; DUBBERSTEIN, D.; DIAS, J. R. M. Cortes basais e substratos na formação de mudas clonais de cafeeiro canéfora. **Coffee Science**, Lavras, v.12, n.1, v.9-16, 2017.

BERGO, C. L.; MENDES, A. N. G. Propagação vegetativa do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) por meio de enraizamento de estacas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.2, p.392-398, 2000.

BUKATSCH, F. Bemerkungen zun Dopplfarbung Astrablau-Safranin. **Mikrokosmos**, v.61, n.8, p.255, 1972.

CARMO, C. A. F. S.; ARAÚJO, W. S.; BERNARDI, A. C. C.; SALDANHA, M. F. C. **Métodos de análise de tecidos vegetais utilizados pela Embrapa Solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2000. 41p.

CUNHA, A. C. M. C. M; PAIVA, H. N.; XAVIER, A., OTONI, W.C. Papel da nutrição mineral na formação de raízes adventícias em plantas lenhosas. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 58, p. 33-47, 2009.

DIAS, J. P. T.; TAKTA, W. H. S.; TAKAHASHI, K.; ONO, E. O. Propragação de figueira com estacas de diferentes diâmetros. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, São Paulo, v. 7, n. 1, p. 52-57, 2013.

DIAS, J. R. M.; SILVA, E. D.; GONÇALVES, G. S.; SILVA, J. F.; SOUZA, E. F. M.: FERREIRA, E.; STACHIW, R. Enraizamento de estacas de cafeeiro imersas em extrato aquoso de tiririca. **Coffee Science**, Lavras, v. 7, n. 3, p. 259-266, 2012.

DUBBERSTEIN, D.; PARTELLI, F. L.; DIAS, J. R. M.; ESPINDULA, M. C. E. Concentration and accumulation of macronutrients in leaf of coffee berries in the Amazon, Brazil. **Australian Journal of Crop Science**, Brisbane, v. 10, n. 5, p. 701-710, 2016.

ESPINDULA, M. C.; PARTELLI, F. L.; DIAS, J. R. M.; MARCOLAN, A. L.; TEIXEIRA, A. L.; FERNANDES, S. R. Condução de cafeeiros *Coffea canephora*. In: MARCOLAN, A.; ESPINDULA, M. C. **Café na Amazônia**. Brasília: Embrapa, 2015, p.219-236.

EVERT, R, F. Anatomia das plantas de ESAU: Meristemas, células e tecidos do corpo da planta: sua estrutura, função e desenvolvimento. 3 ed. Editora Edgard Blucher Ltda: São Paulo, 2013, 726 p.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTGAL, J. C.; KERSTEN, J. C. Propagação vegetativa por estaquia. In: FACHINELLO, J. C. et al. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, p. 69-109, 2005.

GOULART, P. B.; XAVIER, A.; IAREMA, L.; OTONI, W. C. Morfoanatomia da rizogênese adventícia em miniestaca de Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 24, n. 3, p. 521-532, 2014.

GLÓRIA, B. A. (Org.); CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (Org.)**. Anatomia Vegetal**- 2 ed. revista e atualizada. 2. ed. Viçosa: Editora da Universidade Federal de Viçosa, v.1, 2006.. 438 p.

HARTMANN, H. T. KESTER, D. E.; DAVIES JR, F. T.; GENEVE, R. L. **Hartmann and Kester's PLANT PROPAGATION**: Principles and pratices. Boston: Prentice Hall. 8ed. 2011. 915p.

HAUPT, A. W. **A gelatin fixative for paraffin sections. Stain Technology**, v. 5, p.97-98, 1930.

JESUS, A. M. S.; CARVALHO, S. P.; CASTRO, E. M.; GOMES, C. N. Observações anâtomicas em plantas de *Coffea arabica* L. Obtidas por enraizamento de estacas. **Revista Ceres**, v. 57, n. 2, p. 175-180, 2010.

JESUS, A. M. S.; CARVALHO, S. P.; VILLA, F.; LARA, A. C. C. Aspectos fitotécnicos de estacas caulinares de cafeeiro enraizadas. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v.12, n.4, p.308-319, 2013.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York, McGraw-Hill Book Co. Incl., 1940.

KRAUS, J.E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal.** Seropédica: Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, v.1, 1997, 198 p.

LIMA, D. M.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; BONA, C.; MAYER, J. L. S. Capacidade de enraizamento de estacas de *Maytenus muelleri* Schwacke com a aplicação de ácido indl butírico relacionada aos aspectos anatômicos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Paulínia, v. 13, n.4, p. 422-439, 2011.

MARCOLAN, A. L.; RAMALHO, A. R.; MENDES, A. M.; TEIXEIRA, C. A. D.; FERNANDES, C. F.; COSTA, J. N. M.; VIEIRA JÚNIOR, J. R.; OLIVEIRA, S. J. M.; FERNANDES, S. R.; VENEZIANO, W. Cultivo dos cafeeiros Conilon e Robusta para Rondônia. Rondônia: Embrapa, 2009.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, Mi E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, n. 2, p. 368-373, 1964.

OLIVEIRA, R. J. P.; AIRES, R. F.; CAMPOS, A. D. Teores de carboidratos em estacas lenhosas de mirtileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 4, p. 1199-1207, 2012.

PACHECO, J. P.; FRANCO, E. T. H. Ácido indolbutírico em diferentes diâmetros na estaquia de *Luehea divaricata*. **Ciènci**a **Rural**, Santa Maria, v. 38, n.6, 2008.

PAULINO, R. C.; HENRIQUES, G. P. S. A.; MAIA, S. S. S.; COELHO, M. F. B. Diferentes tipos de estacas e de substratos na propagação vegetativa de xanana (*Turnera subulata Sm*). **Revista Verde**, Mossoró, v. 6, n. 4, p. 234-237, 2011.

PIMENTA, A. C.; AMANO, E.; ZUFFELLATO-RIBA, K. C. Estaquia e anatomia caulinar de *Annona crassiflora* Mart. **Caderno de Ciências Agrárias**, São Paulo, v.9, n.2, p.01-07, 2017.

PREZOTTI, L. C.; BRAGANÇA, S. M. Acúmulo de massa seca, N, P e K em diferentes materiais genéticos de café conilon. **Coffee Science**, Lavras, v. 8, n. 3, p. 284-294, 2013.

REZENDE, T. T.; BALIZA, D. P.; OLIVEIRA, D. H.; CARVALHO, S. P.; ÁVILA, F. W.; PASSOS, A. M. A.; GUIMARÃES, R. J. Types of stem cuttings and environments on the growth of coffee stem shoots. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.11, n.5, p.387-391, 2010.

SCHNEIDER, C. A.; RASBAND, W. S.; ELICEIRI, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature Methods**, Canadá, v. 9, p. 671-675, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. Tradução Alessandra Antunes Mastroberti... et al]; Revisão técnica: Paulo Luiz de Oliveira. 6. Edição. Porto Alegre: Artmed, 2017, 690 p.

VERDIM FILHO, A. C.; MAURI, A. L.; VOLPI, P. S.; FONSECA, A. F. A.; FERRÃO, R. G.; FERRÃO, M. A. G.; RODRIGUES, W. N.; ANDRADE JUNIOR, S.; COLODETTI, T. F. Growth and Qality of Clonal Plantlets of Conilon Coffee (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) Influenced by Types of Cuttings. **Americam Journal of Plant Sciences**, Canadá, v. 5, n. 2148-2153, 2014.

WENDLING, I.; BROOKS, P. R.; TRUEMAN, S. J. Topophysis in Corymbia torelliana x C. citriodora seedlings: adventitious rooting capacity, stem anatomy, and auxin and abscisic acid concentrations. **New Forests**, Nova York, v. 46, p. 107-120, 2014.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com os resultados obtidos é possível considerar que o processo de formação de mudas de cafeeiros por meio da estaquia é constituído por três fases de crescimento distintas independente da condição fisiológica e anatômica da estaca. Porém, como os picos de crescimento e acúmulo de massa seca são diferentes entre as estacas, devem-se separar as estacas pela posição de origem na haste ortotrópica para facilitar o manejo dos lotes de mudas dentro do viveiro.

O período de permanência das mudas no viveiro deve ser de no mínimo 125 dias, pois é o momento em que ocorrem os picos de crescimento absoluto e crescimento relativo, e consequentemente o maior acúmulo de massa seca pelas mudas.

Conforme aumenta o período de formação das estacas na planta matriz, os teores dos nutrientes diminuem reflexo do maior acúmulo de massa seca pela haste ortotrópica, sendo o Cálcio uma exceção, devido sua função estrutural. Há também alterações na anatomia dos tecidos dérmico, vascular e fundamental, porém não ocorre prejuízo ao enraizamento adventício.