

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ  
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

**DANIELLE ACCO CADORIN DE FRAGA**

**RUSTIFICAÇÃO DE MUDAS DE *Cordia trichotoma* E *Tabebuia roseo-alba* POR  
JASMONATOS E FLEXÕES CAULINARES**

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PARANÁ  
2017**

**DANIELLE ACCO CADORIN DE FRAGA**

**RUSTIFICAÇÃO DE MUDAS DE *Cordia trichotoma* E *Tabebuia roseo-alba* POR  
JASMONATOS E FLEXÕES CAULINARES**

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

Orientador: Ubirajara Contro Malavasi  
Coorientadora: Marlene de Matos Malavasi  
Coorientador: João Alexandre Lopes Dranski

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ**

**2017**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca da UNIOESTE – Campus de Marechal Cândido Rondon – PR., Brasil)

F811r	<p>Fraga, Danielle Acco Cadorin de Rustificação de mudas de <i>Cordia trichotoma</i> e <i>Tabebuia roseo-alba</i> por jasmonatos e flexões caulinares / Danielle Acco Cadorin de Fraga. – Marechal Cândido Rondon, 2017. 89 f.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Ubirajara Contro Malavasi Coorientadores: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marlene de Matos Malavasi Prof. Dr. João Alexande Lopes Dranski</p> <p>Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, 2017.</p> <p>1. Arvores - Brasil. 2. Arvores – Mudas. 3. Silvicultura. I. Malavasi, Ubirajara Contro. II. Malavasi, Marlene de Matos. III. Dranski, João Alexandre Lopes. IV. Título.</p> <p>CDD 22. ed. 634.95 CIP-NBR 12899</p>
-------	---

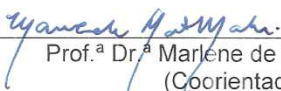
Ficha catalográfica elaborado por Marcia Elisa Sbaraini Leitzke CRB-9/539

DANIELLE ACCO CADORIN DE FRAGA

RUSTIFICAÇÃO DE MUDAS DE *Cordia trichotoma* E *Tabebuia roseo-alba*  
POR JASMONATOS E FLEXÕES CAULINARES

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 1º de junho de 2017



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marlene de Matos Malavasi  
(Coorientadora)  
(UNIOESTE)



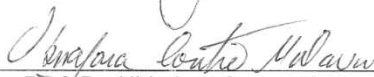
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria do Carmo Lana  
(UNIOESTE)



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Silvia Regina Goi  
(UFRRJ)



Prof. Dr. João Alexandre Lopes Dranski  
(Coorientador)  
(FACEMED)



Prof. Dr. Ubirajara Contro Malavasi  
(Orientador)  
(UNIOESTE)

Dedico à minha mãe,  
Eliete Cecília Acco Cadorin,  
inspiração de todos os dias, fonte de ânimo  
e otimismo em minha vida.

*“Tu te tornas eternamente responsável por aquilo que cativas”*

Antoine de Saint-Exupéry

## AGRADECIMENTOS

Ao meu amado pai, Neri Cadorin, por se fazer presente em todos os momentos no meu coração.

A Deus, pela certeza de que nunca estou só.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Agradeço profundamente e carinhosamente ao meu orientador Ubirajara Contro Malavasi e à minha coorientadora Marlene de Matos Malavasi pela orientação, paciência e dedicação na formulação desse trabalho. Sou grata também pela relação de respeito e confiança estabelecida durante esses três anos. Muito obrigada!

Ao amigo e coorientador João Alexandre Lopes Dranski por toda a preciosa ajuda nesse percurso. Pela generosidade em dividir o que sabe e por tornar esse trabalho possível.

A todos os professores que passaram pela minha vida. De forma especial, à Nilvânia Aparecido de Mello, Lenir Maristela Silva e Ionete Hasse.

À ITAIPU BINACIONAL pela doação de mudas de *C. trichotoma*.

Aos funcionários da UNIOESTE pela ajuda na coleta de sementes e na condução do experimento.

Ao Instituto Tecnológico Simepar, pelo fornecimento dos dados climáticos de Pato Branco/PR durante a condução do experimento.

Agradeço aos queridos Fernando Huppes, Oscar Huppes, Reni Huppes e Mônica Huppes por terem cedido a área experimental em Pato Branco e por todo auxílio no experimento.

Aos amigos feitos nesses três anos, os quais me ajudaram de muitas maneiras diferentes. Em especial, à Graciela Dalastra, Daiana Kaiser, Laura Freitas, Karina Heberle, Maria Cristina Copello, Eunice Lima e Neusa Franciscon. Cada momento de auxílio foi precioso e indispensável.

Aos amigos de todas as horas Pablo Coutinho e Jaqueline Vanelli. Sou grata por todos os momentos de auxílio no campo, nos laboratórios, pelas sugestões, revisões e correções. Sou mais grata ainda pelas conversas, pelas palavras amigas, pelo carinho trocado e pela certeza de que terei suas amizades para a vida toda. Vocês foram a parte mais alegre desse doutorado.

À família Vanelli, pela acolhida de tantos momentos enquanto estive longe da minha própria família.

À minha família, pelo apoio incondicional e por permitir que eu chegasse até aqui. À minha mãe, Eliete Cadorin, pelo exemplo de perseverança e de coragem, por ser acalento para alma em dias turbulentos. Ao meu irmão, Lucas Cadorin, pela leveza, por ser amigo inestimável e presença carinhosa em minha vida.

Por fim, agradeço ao meu esposo, companheiro e amigo Rodolfo Fraga. Agradeço por cada momento de auxílio - que não foram poucos - na execução desse trabalho. Sou grata pela ajuda, pelo incentivo, por acreditar e participar dos meus projetos e principalmente pela dedicação e compreensão durante os momentos de ausência, de incertezas e de angústias.



## RESUMO

FRAGA, Danielle Acco Cadorin de, D. S. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, junho de 2017. **Rustificação de mudas de *Cordia trichotoma* e *Tabebuia roseo-alba* por jasmonatos e flexões caulinares.** Orientador: Ubirajara Contro Malavasi. Coorientadores: Marlene de Matos Malavasi e João Alexandre Lopes Dranski.

A submissão de mudas a estímulos mecânicos e reguladores vegetais durante a fase de rustificação em viveiros promove alterações morfológicas e fisiológicas que podem melhorar atributos de qualidade e induzir melhor desempenho no campo. O trabalho objetivou avaliar os efeitos da aplicação de jasmonatos e de flexões caulinares na rustificação, crescimento inicial e na lignificação em mudas de *Cordia trichotoma* e *Tabebuia roseo-alba*. As mudas de *Cordia trichotoma* foram submetidas a 20 flexões diárias por 4 semanas e por 8 semanas; pulverizações de 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de metil jasmonato aplicados semanalmente por 4 semanas e por 8 semanas e um tratamento controle. O delineamento utilizado foi inteiramente ao acaso, com cinco repetições de quatorze mudas. As mudas de *Tabebuia roseo-alba* foram submetidas a 20 flexões diárias por 4 semanas e por 8 semanas; pulverizações de 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de ácido jasmônico aplicados semanalmente por 4 semanas e por 8 semanas e um tratamento controle. O delineamento utilizado foi de blocos ao acaso, com cinco repetições de dezesseis mudas. Mudas de *Cordia trichotoma* submetidas aos tratamentos rustificativos apresentaram menor incremento em altura, maior incremento em diâmetro de coleto e menor valor para o índice de robustez. Mudas do tratamento controle tiveram maior perda de eletrólitos do tecido radicular e menor potencial de crescimento de raízes. No campo, 180 dias após o plantio, mudas submetidas a oito semanas de flexões caulinares e oito aplicações de metil jasmonato externaram maior incremento em altura e diâmetro de coleto. Em *Tabebuia roseo-alba*, a aplicação de ácido jasmônico por 8 semanas resultou em maior incremento no diâmetro de coleto em comparação com o tratamento controle. Mudas flexionadas diariamente por 8 semanas apresentaram menor número de folhas, massa seca da parte aérea e área foliar em relação aos demais tratamentos. O tratamento controle externou maior extravasamento de eletrólitos do tecido radicular em relação às mudas estimuladas por meio físico ou químico. A clorofila

total foi significativamente menor nos tratamentos com 8 semanas de flexões e 4 semanas de aplicações de regulador em comparação com a testemunha. Após o plantio no campo, não foram observadas diferenças no incremento em altura e diâmetro do caule no nível do solo entre os diferentes tratamentos. As duas espécies tiveram a lignina da parte aérea aumentada com a aplicação de flexões caulinares por oito semanas e ambas não apresentaram diferença na concentração de lignina do tecido radicular. Após 360 dias de plantio no campo para *Tabebuia roseo-alba* e 450 dias para *Cordia trichomota*, não foram detectadas diferenças significativas na concentração de lignina da parte aérea.

Palavras chave: ipê-branco; lignina; louro-pardo; tigmomorfogênese; regulador vegetal.

## ABSTRACT

FRAGA, Danielle Acco Cadorin de, State University of Western Paraná, in June 2017. **Rustification of *Cordia trichotoma* and *Tabebuia roseo-alba* seedlings by jasmonates and stem bending.** Advisor: Ubirajara Contro Malavasi. Co-advisors: Marlene de Matos Malavasi and João Alexandre Lopes Dranski.

The submission of seedlings to mechanical and chemical stimuli during the hardening phase in nurseries promotes morphological and physiological changes that can improve quality attributes and induce better performance in the field. The study aimed to evaluate the effects of applying jasmonates and stem bending in hardening, initial growth and lignification in *Cordia trichotoma* and *Tabebuia roseo-alba* seedlings. *Cordia trichotoma* seedlings were subjected to 20 stem bending daily for 4 weeks and for 8 weeks; 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  of methyl jasmonate applied weekly for 4 weeks; 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  of methyl jasmonate applied weekly for 8 weeks and the control treatment. The design was a completely randomized, with five repetitions of the fourteen seedlings. *Tabebuia roseo-alba* seedlings were subjected to 20 stem bending daily for 4 weeks and for 8 weeks; 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  of jasmonic acid applied weekly for 4 weeks and for 8 weeks and the control treatment. The design was a randomized blocks, with five repetitions of the sixteen seedlings. *Cordia trichotoma* seedlings submitted to hardening treatments showed less increment in height, greater increment in stem diameter and less value for strength index. Seedlings of control treatment had greater loss of root tissue electrolytes and less potential for root regeneration. In the field, 180 days after planting, seedlings submitted to eight weeks of stem bending and eight methyl jasmonate applications showed greater increment in height and stem diameter. In *Tabebuia roseo-alba*, seedlings treated with jasmonic acid for 8 weeks resulted in higher increment in stem diameter compared to control seedlings. Stem bending for 8 weeks resulted in seedling with fewer leaves and less aboveground dry biomass compared to the other treatments. The results of electrolyte leakage from root tissues of control seedlings showed higher value compared to results from seedlings subjected to either physical or chemical treatments. Total chlorophyll content was significantly reduced in leaves from seedling submitted to stem bending for 8 weeks and application of jasmonic

acid for 4 weeks compared to the control seedlings. After planting in the field, there was no difference in height and diameter increments between the different treatments. Both species had higher lignin in shoot with applications of stem bending for eight weeks and both showed no difference in the lignin concentration of the root tissue. After 360 days of planting in the field for *Tabebuia roseo-alba* and 450 days for *Cordia trichomota*, no significant differences were detected in the lignin concentration of shoot tissues.

Palavras chave: ipê-branco; lignin; louro-pardo; thigmomorphogenesis; plant growth regulator.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### ARTIGO I

Figura 1 - Representação gráfica do equipamento utilizado para efetuar as flexões caulinares em mudas de *C. trichotoma* 27

### ARTIGO II

Figura 1 - Precipitação acumulada e médias de temperatura do ar e radiação solar na microrregião de Marechal Cândido Rondon/PR em 2015 e 2016 52

### ARTIGO III

Figura 1 - Precipitação acumulada e média de temperatura do ar na microrregião de Pato Branco/PR em 2014-2016 68

Figura 2 - Precipitação acumulada e média de temperatura do ar na microrregião de Marechal Cândido Rondon/PR em 2015 e 2016 70

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO I

TABELA 1 - Incremento na altura (IH), no diâmetro do coleto (ID) e no índice de robustez (IR) em mudas de *C. trichotoma* submetidas a estímulos mecânicos e aplicações de metil jasmonato 30

TABELA 2 - Massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raízes (MSR), perda de eletrólitos de raízes (PER) e potencial de crescimento de raízes (PRR) em mudas de *C. trichotoma* submetidas a estímulos mecânicos e aplicações de metil jasmonato 30

TABELA 3 - Incremento na altura (IH) e no diâmetro do coleto (ID) em mudas de *C. trichotoma* submetidas a estímulos mecânicos e aplicações de metil jasmonato após 90 e 180 dias de plantio a campo 34

### ARTIGO II

TABELA 1 - Incremento no diâmetro do coleto (ID), número de folhas (NF), área foliar (AF), massa seca aérea (MSA) e perda de eletrólitos de raízes (PER) em mudas de *Tabebuia roseo-alba* submetidas a estímulos mecânicos e aplicações de ácido jasmônico 48

TABELA 2 - Clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila *a + b* em mudas de *Tabebuia roseo-alba* submetidas a estímulos mecânicos e aplicações de ácido jasmônico 50

TABELA 3 - Incremento na altura (IH) e no diâmetro do colo ao nível do solo (ID) em mudas de *Tabebuia roseo-alba* aos 90, 180, 270 e 360 dias após o plantio 53

TABELA 4 - Coeficiente de correlação simples entre incremento em altura (IH), incremento em diâmetro (ID) de mudas de *Tabebuia roseo-alba* e as variáveis climáticas durante o período avaliativo a campo 53

### ARTIGO III

TABELA 1 - Teor de lignina nos tecidos caulinares em mudas de *Cordia trichotoma* e *Tabebuia roseo-alba* rustificadas com flexões caulinares e aplicações de jasmonatos 72

TABELA 2 - Perda de eletrólitos (PER) e potencial de crescimento de raízes (PRR) em mudas de <i>Cordia trichotoma</i> e <i>Tabebuia roseo-alba</i> rustificadas com flexões caulinares e aplicações de jasmonatos	75
TABELA 3 - Coeficiente de correlação e coeficientes de trilha em mudas de <i>C. trichotoma</i>	77
TABELA 4 - Coeficiente de correlação e coeficientes de trilha para mudas de <i>Tabebuia roseo-alba</i>	79

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	16
REFERÊNCIAS.....	19
2 ARTIGO I - METIL JASMONATO E FLEXÕES CAULINARES NA RUSTIFICAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE MUDAS DE <i>Cordia trichotoma</i> .....	22
2.1 RESUMO .....	22
2.2 ABSTRACT .....	23
2.3 INTRODUÇÃO .....	24
2.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	30
2.6 CONCLUSÕES.....	35
REFERÊNCIAS.....	36
3 ARTIGO II: ESTÍMULO QUÍMICO E MECÂNICO NA RUSTIFICAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE MUDAS DE <i>Tabebuia roseo-alba</i> .....	38
3.1 RESUMO .....	38
3.2 ABSTRACT .....	39
3.3 INTRODUÇÃO .....	40
3.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	46
3.6 CONCLUSÕES.....	55
REFERÊNCIAS.....	56
4 ARTIGO III: MODULAÇÃO DO TEOR DE LIGNINA EM MUDAS DE <i>Cordia trichotoma</i> e <i>Tabebuia roseo-alba</i> RUSTIFICADAS COM ESTÍMULOS QUÍMICOS E MECÂNICOS.....	60
4.1 RESUMO .....	60
4.2 ABSTRACT .....	61
4.3 INTRODUÇÃO .....	62
4.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	65
4.4.1 Experimento com <i>Cordia trichotoma</i> .....	65
4.4.2 Experimento com <i>Tabebuia roseo-alba</i> .....	68
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	72
4.6 CONCLUSÕES.....	82
REFERÊNCIAS.....	83
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	88



## 1 INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil, existem extensas áreas degradadas e de reserva legal, além daquelas passíveis de manejo com inserção de florestas e agroflorestas, em que se faz necessário inserir espécies nativas. Aquelas áreas demandam, portanto, a disponibilidade de material propagativo em quantidade e qualidade adequadas. Conseguir inserir todas as espécies desejáveis dentro do ecossistema depende da obtenção de mudas de espécies lenhosas com padrões mínimos de qualidade, em quantidade e diversidade suficientes (BELLOTTO et al. 2009; KELER et al., 2009).

Dessa forma, salienta-se que o êxito dos plantios florestais, além de depender de fatores como a época de plantio, escolha das espécies, condições edáficas e climáticas e tratos culturais empregados durante o seu estabelecimento, depende também da qualidade das mudas empregadas no processo de cultivo (GOMES et al., 2002).

Obviamente, como já reportado por Carneiro (1995), a qualidade das mudas é entendida como um conceito relativo, visto que varia conforme os sítios de plantio. Apesar disso, mudas de qualidade podem ser consideradas aquelas que proporcionam alto percentual de sobrevivência do povoamento e que exprimem desempenho eficiente a ponto de permitir redução na frequência dos tratos culturais nos primeiros anos do plantio.

Assim, faz-se necessário a condução de pesquisas com a intenção de identificar técnicas que possam ser utilizadas para a obtenção de mudas na fase de viveiro com características que se correlacionam com o desempenho a campo. Características morfológicas, fisiológicas e atributos de desempenho têm sido utilizados como preditores do desempenho de mudas no pós-plantio (GOMES et al., 2002; RITCHIE et al., 2010; DRANSKI et al., 2013.; CADORIN et al., 2014).

Diferentemente das características acima citadas, a lignificação dos tecidos aéreos e radiculares de mudas de espécies lenhosas não é reconhecidamente um atributo de qualidade. Apesar disso, sabe-se que a lignina é uma macromolécula fenólica responsável por diversas funções de essencial importância na vitalidade e no desempenho de plantas (MONTEIRO et al., 2004; TAIZ e ZEIGER, 2013).

A lignina é responsável pela sustentação mecânica dos vegetais, além de desempenhar importantes funções protetoras, inibindo a herbivoria e a infecção por

patógenos (PELTIER et al., 2009; TAIZ e ZEIGER, 2013). Adicionalmente, é um componente fundamental do tecido no transporte da água e sua deposição na parede celular propicia maior resistência ao embolismo, que é causa de mortalidade de mudas em condições de restrição hídrica severa (VOELKER et al., 2011; HERBETTE et al., 2015; MALAVASI et al., 2016). Dessa forma, é possível inferir que haja relação entre a lignificação dos tecidos de mudas e o desempenho e sobrevivência no campo.

A concentração de lignina em mudas de espécies lenhosas e as características morfológicas e fisiológicas são passíveis de modulação através de estímulo físico (KERN et al., 2005; VOLKWEIS et al., 2014; DRANSKI et al., 2015) e químico (DRANSKI et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2009; HEBERLE, 2016). Nesse sentido, espera-se que aqueles estímulos possam ser utilizados como métodos de rustificação em viveiros.

A rustificação é um conjunto de práticas empregadas ao final do ciclo de produção que tem como intuito aclimatar os indivíduos às condições de plantio. Práticas rustificativas tradicionalmente compreendem a transferência das mudas para áreas com diferentes regimes de luz e temperatura, redução na frequência de regas e redução da fertilização.

Aquelas práticas tornam as mudas mais aptas a se desenvolverem em condições de estresse e modulam características morfofisiológicas de interesse (LIMA, et al., 2014; ORO et al., 2016). Adicionalmente, como já reportado, a rustificação pode ser realizada através de estímulos físicos, frequentemente realizados através de flexões caulinares, e químicos, através da aplicação de reguladores vegetais.

Entre os reguladores vegetais que podem ser utilizados como estimulantes químicos em mudas na fase de viveiro estão os jasmonatos. O ácido jasmônico e seu metil éster metil jasmonato são hormônios derivados do ácido linolênico que desempenham nas plantas funções semelhantes as do etileno e do ácido abscísico. Induzem a expressão de genes envolvidos na resistência a patógenos e insetos, provocam senescência e abscisão de folhas, degradação da clorofila e estimulam a formação de tubérculos (VIEIRA et al., 2010; COLLI, 2012).

O estímulo físico aplicado na forma de flexões caulinares desencadeia nas plantas respostas morfométricas normalmente associadas com a redução na altura, aumento no diâmetro de coleto e na massa de matéria seca do tecido radicular,

além de se relacionar com a lignificação dos tecidos aéreos e radiculares (VOLKWEIS et al., 2014; DRANSKI et al., 2015). Aquelas respostas ao estímulo mecânico foram conceituadas por Jaffe (1973) como tigmomorfogênese e têm sido descritas como desejáveis durante a fase de rustificação de mudas (JACOBSON e WILKSON, 2009).

A aplicação de flexões caulinares no viveiro é de difícil operacionalização, e assim justificam-se estudos que busquem métodos rustificativos alternativos, tais como a aplicação de reguladores vegetais, mais facilmente manejáveis.

*Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud, conhecida como louro-pardo e *Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sandwith, conhecida como ipê-branco ou pau d'arco são espécies lenhosas nativas da flora brasileira, com potencial utilização para fins conservacionistas, o que justifica estudos a respeito da melhor forma de produção de mudas para aquele fim (IBGE, 2002; DUBOC, 2004; BRACK e GRINGS, 2011).

O presente trabalho objetivou mensurar alterações nas características morfofisiológicas, na modulação da lignificação dos tecidos aéreos e radiculares e no crescimento inicial a campo em mudas de *Cordia trichotoma* e *Tabebuia roseo-alba* submetidas a flexões caulinares e aplicações de jasmonatos durante a fase de rustificação.

## REFERÊNCIAS

- BELLOTTO, A., GANDOLFI, S., RODRIGUES, R. Restauração fundamentada no plantio de árvores, sem critérios ecológicos para escolha e combinação das espécies. In: RODRIGUES, R. R. et al. (Eds.). **Pacto para a restauração da mata atlântica**. São Paulo: LERF/ESALQ: Instituto Bioatlântica, 2009.
- BRACK, P.; GRINGS, M. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**. Brasília, MMA, 2011. 936p.
- CARNEIRO, J. G. de A. **Produção e controle de qualidade de mudas florestais**. Curitiba: UFPR/FUPEF, 1995. 451 p.
- COLLI, S. Outros Reguladores: brassinosteróides, poliaminas, ácidos jasmônico e salicílico. In: KERBAUY, G. B. (ed). **Fisiologia Vegetal**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012, p. 337-338.
- DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M.; JACOBS, D. F. Effect of ethephon on hardening of *Pachystroma longifolium* seedlings. **Revista Árvore**, Viçosa, v.37, n.3, p.401-407, 2013.
- DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M. Relationship between lignin content and quality of *Pinus taeda* seedlings. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 39, n.5, p. 905-913, 2015.
- DUBOC, I. **Cultivo de espécies nativas do bioma cerrado**. Planaltina. Embrapa Cerrados, 2004. 10 p. (Embrapa Cerrados. Circular Técnica 110).
- GOMES J. M.; COUTO, L.; LEITE, H. G.; XAVIER, A.; GARCIA, S. L. **Parâmetros morfológicos na avaliação de qualidade de mudas de *Eucalyptus grandis*** **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.26, n.6, p.655-664, 2002.
- HEBERLE, K. **Aplicação de ácido jasmônico na rustificação em mudas de ipê roxo e guajuvira**. 2016. 54p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2016.
- HERBETTE, S.; BOUCHET, B.; BRUNEL, N.; BONNIN, E.; COCHARD, H.; GUILLON, F. Immunolabelling of intervessel pits for polysaccharides and lignin helps in understanding their hydraulic properties in *Populus tremula x alba*. **Annals of Botany**, v.115, p.187–199, 2015.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Árvores do Brasil Central: espécies da região geoeconômica de Brasília**, v.1. Rio de Janeiro: IBGE, Diretoria de Geociências, 2002. 417p.
- JACOBS, D. F.; WILKINSON, K. M. Planning Crops and Developing Propagation Protocols. In: DUMROESE, R. K.; LUNA, T.; LANDIS, T. D. (Eds.). **Nursery manual for native plants: guide for tribal nurseries**. v.1. Washington: United States Department of Agriculture, Forest Service, 2009. p.32-54.

- JAFFE, M. J. Thigmomorphogenesis: the response of plant growth and development to mechanical stimulation with special reference to *Bryonia dioica*. **Planta**, v.114, n.2, p.143-156, 1973.
- KELER, L., LELES, P. S. S., OLIVEIRA NETO, S. N., COUTINHO, R. P. & NASCIMENTO, D. F. 2009. Sistema de blocos prensados para produção de mudas de três espécies arbóreas nativas. **Revista Árvore**, 33: 305-314.
- KERN, A. K.; WERS, W. F.; TELEWSKI, W. F.; KOEHLER, L. Mechanical perturbation affects conductivity, mechanical properties and above ground biomass of hybrid poplars. **Tree Physiology**, v.25, n.10, p.1243-1251, 2005.
- LIMA, P. R.; HORBACH, M. A.; DRANSKI, J. A. L.; ECCO, M.; MALAVASI, M.M.; MALAVASI, U. C. Avaliação morfofisiológica em mudas de *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos durante a rustificação. **Floresta e Ambiente**, v. 21, n.3, p.16-326, 2014.
- MALAVASI, U. C.; DAVIS, A. S.; MALAVASI, M. M. Lignin in Woody Plants under Water Stress: A Review. **Floresta e Ambiente**, v. 23, n. 4, p. 589-597, 2016.
- MONTEIRO, M. B. O.; PEREIRA, R. P. W.; ABREU, H. S. Bioquímica da lignificação de células xilemáticas. **Floresta e Ambiente**, v.11, n.2, p.48-57, 2004.
- OLIVEIRA, M. B.; ABREU, S. H.; PEREIRA, W. P. R. Teor de Lignina em Plantas de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake Tratadas com Fitorreguladores. **Revista Silva Lusitana**, Lisboa, v. 17, n.1, p.51-57, 2009.
- ORO, P.; DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M. **Frequência da irrigação ao final da produção em mudas de espécies lenhosas**. Revista de Ciências Agroveterinárias, Lages, v.15, n.2, p.94-102, 2016
- PELTIER, A. J.; HATFIELD, R. D., GRAU, C. R. Soybean stem lignin concentration relates to resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, v.93, n.2, p.149-154, 2009.
- RITCHIE, G. A.; LANDIS, T. D.; DUMROESE, R. K.; HAASE, D. L. Assessing Plant Quality. In: LANDIS, T. D.; DUMROESE, R. K.; HAASE, D. L. (Eds.). **The container tree nursery manual: seedling processing, storage, and out planting**. v.7. Washington: Department of Agriculture Forest Service, 2010, p.19-81.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013, 918p.
- VIEIRA, E. L.; SOUZA, G. L.; SANTOS, A. R.; SILVA, J. S. **Manual de fisiologia vegetal**. São Luis: EDUFMA, 2010, 230p.
- VOELKER, S.; LACHENBRUCH, B.; MEINZER, C. F.; KITIN, P.; STRAUSS, H. S. Transgenic poplars with reduced lignin show impaired xylem conductivity, growth efficiency and survival. **Plant, Cell and Environment**, v.34, p.655-668, 2011.

VOLKWEIS, R. C.; DRANSKI, J. A. L.; ORO, P.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M. Efeito da tigmomorfogênese na morfometria de mudas de *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch. **Ciência Florestal**, v.24, n.2, p.339-342, 2014.

## 2 ARTIGO I - METIL JASMONATO E FLEXÕES CAULINARES NA RUSTIFICAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE MUDAS DE *Cordia trichotoma*<sup>1</sup>

### 2.1 RESUMO

A submissão de mudas a estímulos mecânicos e reguladores vegetais promove a sua rustificação, podendo ser incluídas na rotina dos viveiros, favorecendo a sobrevivência e o crescimento inicial a campo. O trabalho objetivou avaliar os efeitos da aplicação de metil jasmonato e de flexões caulinares na rustificação e no crescimento inicial de mudas de *Cordia trichotoma*. As mudas foram submetidas a 20 flexões diárias por 4 semanas e por 8 semanas; pulverização de 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de metil jasmonato aplicados semanalmente por 4 semanas e por 8 semanas e um tratamento controle. O delineamento utilizado foi inteiramente ao acaso, com cinco repetições de quatorze mudas. Mudas submetidas aos tratamentos rustificativos apresentaram menor incremento em altura, maior incremento em diâmetro de coleto e menor valor para o índice de robustez. Mudas do tratamento controle tiveram maior perda de eletrólitos do tecido radicular e menor potencial de crescimento de raízes. No campo, 180 dias após o plantio, mudas submetidas a oito semanas de flexões caulinares e oito aplicações de metil jasmonato externaram maior incremento em altura e diâmetro de coleto. Os resultados indicam que tanto flexões caulinares como aplicação de metil jasmonato por oito semanas são eficientes em promover a rustificação e melhorar o desempenho inicial a campo de mudas de *Cordia trichotoma*.

Palavras chave: louro-pardo; tigmomorfogênese; regulador vegetal.

---

<sup>1</sup> Artigo publicado na Revista CERNE, v.21, n.4, 2015. ISSN: 0104-7760.

## ARTICLE I: METHYL JASMONATE AND STEM BENDING HARDENING AND INITIAL GROWTH OF *Cordia trichotoma* SEEDLINGS

### 2.2 ABSTRACT

The submission of seedlings to mechanical stimuli and plant growth regulator promote their hardening and can be included in the routine of nurseries, favoring the survival and initial grow in the field. The study aimed to evaluate the effects of applying methyl jasmonate and stem bending in hardening and initial growth of *Cordia trichotoma* seedlings. Seedlings were subjected to 20 stem bending daily for 4 weeks; 20 stem bending daily for 8 weeks; 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  of methyl jasmonate applied weekly for 4 weeks; 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  of methyl jasmonate applied weekly for 8 weeks and the control treatment. The design was a completely randomized, with five repetitions of the fourteen seedlings. Seedlings submitted to hardening treatments showed less increment in height, greater increment in stem diameter and less value for strength index. Seedlings of control treatment had greater loss of root tissue electrolytes and less potential for root regeneration. In the field, 180 days after planting, seedlings submitted to eight weeks of stem bending and eight methyl jasmonate applications showed greater increment in height and stem diameter. The results indicate that both stem bending such as methyl jasmonate application for eight weeks are effective in promoting hardening and improve the starting performance in field of *Cordia trichotoma* seedlings.

Keywords: louro-pardo; thigmomorphogenesis; plant growth regulator.



## 2.3 INTRODUÇÃO

A qualidade de mudas de espécies lenhosas baseia-se numa série de características morfofisiológicas que se relacionam com a sobrevivência a campo, e conseqüentemente com o sucesso de plantios florestais. Pesquisas indicam que algumas práticas, tais como a submissão de mudas a estímulos mecânicos e a reguladores vegetais podem estar relacionadas com a rustificação de espécies lenhosas (JACOBS e LANDIS, 2009; ORO et al., 2011; DRANSKI, 2013; VOLKWEIS et al., 2014). Assim, tais práticas poderiam ser incluídas na rotina dos viveiros, favorecendo a sobrevivência e o crescimento inicial de mudas a campo.

Os estímulos mecânicos têm sido realizados através de flexões caulinares em mudas. Apesar das respostas vegetais a estes estímulos serem muito variáveis entre espécies, alguns comportamentos comuns a um grande número de espécies lenhosas têm sido relatados. Entre eles estão a redução do alongamento celular, com conseqüente redução na altura das mudas e o aumento no diâmetro de coleto, atributos que tem servido como indicadores da qualidade de mudas (KERN et al., 2005; DRANSKI, 2013; VOLKWEIS et al., 2014).

A ação de reguladores vegetais pode estar relacionada à rustificação de mudas. O ácido jasmônico e seus derivados jasmonatos são reguladores endógenos do crescimento vegetal originários do ácido linolênico, que ocorrem em várias espécies vegetais. Esses reguladores modulam a senescência de plantas, abscisão foliar, desenvolvimento de embriões e mecanismo de defesa, agindo como sinalizadores de estresse (KERBAUY, 2008).

*Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud, popularmente conhecida como louro-pardo, é uma espécie lenhosa pioneira nativa, de ocorrência principalmente na Floresta Estacional Semidecidual (LORENZI, 2002). A espécie apresenta potencial para reflorestamento com fins ambientais e produtivos, pois possui crescimento rápido e atinge de 20 a 30 m de altura com 40 a 60 cm de diâmetro, sendo sua madeira considerada nobre (BRACK e GRINGS, 2011).

Apesar do uso de flexões caulinares resultarem em mudas com maior rusticidade, sua execução em viveiros comerciais ainda é de difícil operacionalização. Portanto, a pulverização com metil jasmonato possui caráter

prático, uma vez que as respostas fisiológicas são semelhantes, e poderia substituir aquele método rustificativo.

Este ensaio objetivou avaliar os efeitos da aplicação de metil jasmonato e de flexões caulinares na rustificação e no crescimento inicial de mudas de *C. trichotoma*.

## 2.4 MATERIAL E MÉTODOS

Os tratamentos foram aplicados em ambiente protegido não climatizado localizado no município de Marechal Cândido Rondon, PR, durante os meses de setembro a novembro de 2014.

O clima da região, segundo Köppen, é caracterizado como tipo Cfa, subtropical, com temperatura média no mês mais frio inferior a 18 °C e temperatura média no mês mais quente acima de 22 °C, com geadas pouco frequentes e tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, contudo, sem estação seca definida. A precipitação pluviométrica anual é em torno de 1.600 a 1.800 mm (CAVIGLIONE et al., 2000).

Mudas de *C. trichotoma* foram propagadas em tubetes de 120 cm<sup>3</sup> preenchidos com mistura de substrato comercial a base de casca de pinus e solo local na proporção de 4:1 (v.v.) com incorporação de fertilizante de liberação controlada (18N-5P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-9K<sub>2</sub>O) na proporção de 1,44 kg m<sup>-3</sup> de substrato. Os tubetes foram acomodados em suportes plásticos (bandejas) com capacidade de 96 tubetes e durante a fase de formação as mudas permaneceram em 50% de sombreamento.

Os valores de umidade relativa e temperatura do ar durante a aplicação dos tratamentos foram obtidos diariamente com o auxílio de um termo-higrômetro digital. A temperatura média do ambiente no momento da aplicação dos tratamentos manteve-se a 26,3 °C, e a umidade relativa do ar em 51 %. Durante este período as mudas permaneceram em ambiente protegido não climatizado recoberto com filme de polietileno de baixa densidade e anti-UV de 150 micra de espessura, resultando em 20% de sombreamento.

Quando as mudas apresentaram altura média de 15,0 cm e diâmetro de coleto de 3,22 mm os tratamentos foram impostos. O delineamento experimental foi o inteiramente ao acaso com cinco repetições de quatorze mudas, que foram submetidas aos seguintes tratamentos: testemunha com água deionizada + tensoativo não iônico aplicados semanalmente; TIG4: 20 flexões diárias por 4 semanas + água deionizada e tensoativo não iônico aplicados semanalmente; TIG8: 20 flexões diárias por 8 semanas + água deionizada e tensoativo não iônico aplicados semanalmente; MJ4: 50 µmol L<sup>-1</sup> de metil jasmonato + água deionizada + tensoativo não iônico aplicados semanalmente por 4 semanas; MJ8: 50 µmol L<sup>-1</sup> de

metil jasmonato + água deionizada + tensoativo não iônico aplicados semanalmente por 8 semanas.

A aplicação de flexões caulinares e regulador vegetal nos tratamentos que consistiram em apenas 4 semanas de imposição de estímulos ocorreu nas últimas semanas em relação aos tratamentos que receberam estímulos por 8 semanas. Durante as primeiras 4 semanas, as mudas que não foram tratadas permaneceram sob irrigação. Tanto na formação das mudas quanto na imposição dos tratamentos a irrigação ocorreu por aspersão duas vezes ao dia.

As flexões caulinares compreenderam estímulos mecânicos efetuados diariamente através da passagem em sentido único de uma estrutura composta por uma barra de cano de PVC com 25 mm de diâmetro disposta horizontalmente e fixada em uma estrutura metálica com rolamentos (Figura 1). As mudas foram flexionadas verticalmente não mais do que 45° mediante a passagem da barra no terço inferior da folhagem, sempre no mesmo horário, a uma velocidade de 0,10 m seg<sup>-1</sup> (VOLKWEIS et al., 2014).

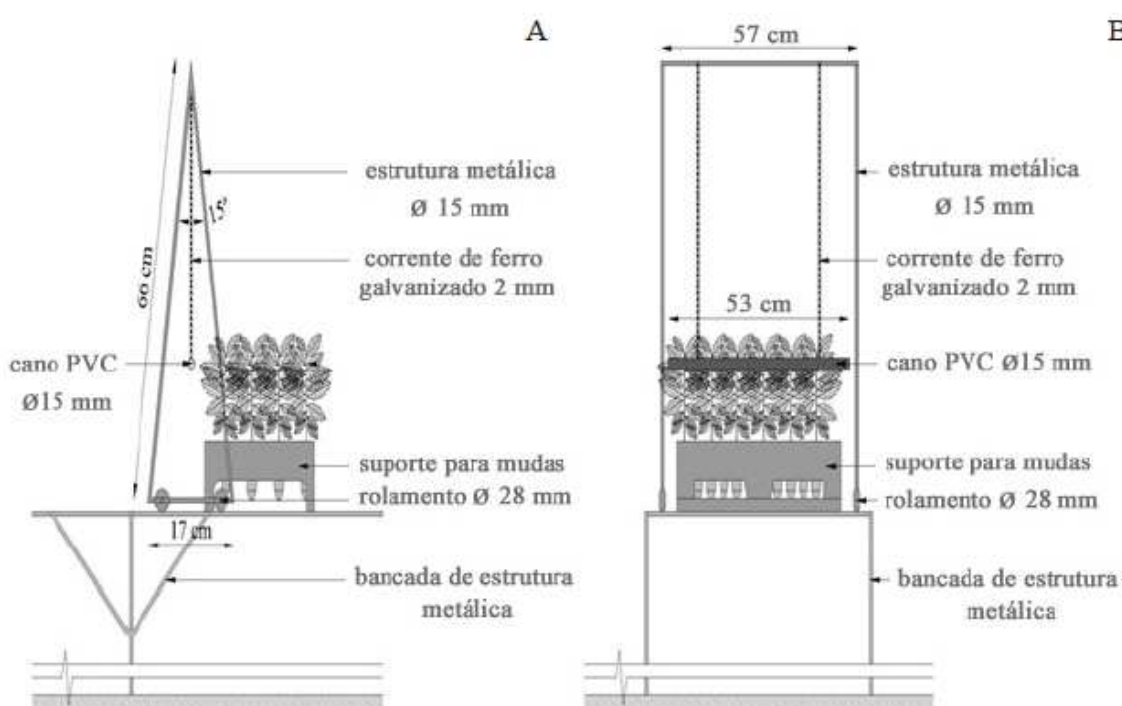


Figura 1 - Representação gráfica do equipamento utilizado para efetuar as flexões caulinares em mudas de *C. trichotoma*. A: vista lateral; B: vista frontal.

Figure 1 - Graphical representation of the equipment utilized for make the stem bending in *C. trichotoma* seedlings. A: side view; B: frontal view.

FONTE: VOLKWEIS, et al. (2014).

A aplicação do regulador de crescimento foi realizada em intervalos de uma semana através de pulverizações foliares de metil jasmonato na concentração de 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , com volume equivalente a 7 mL por muda, ponto em que iniciou o escorrimento foliar. As soluções foram constituídas de metil jasmonato, água deionizada e tensoativo não iônico, aplicadas com pulverizador costal manual, trabalhando a 0,3 MPa. O tensoativo foi utilizado por melhorar a distribuição e absorção foliar do produto aplicado, através da redução da tensão superficial das gotas reduzindo o ângulo de contato destas com a superfície da folha.

Ao final do período de imposição dos tratamentos foram selecionadas ao acaso seis mudas por repetição para as determinações dos incrementos na altura da muda, no diâmetro do coleto, a relação entre altura e diâmetro do coleto (índice de robustez), as massas secas de raízes e dos tecidos aéreos, a perda de eletrólitos dos tecidos radiculares e o potencial de crescimento de raízes.

A altura da muda foi obtida com régua graduada a partir do nível do substrato até a gema apical e o diâmetro do coleto mensurado com o auxílio de um paquímetro digital. As massas de matéria secas de raízes e dos tecidos aéreos foram obtidas através de secagem em estufa de circulação de ar a 60°C durante 72 h. Os incrementos foram calculados pela diferença entre os valores antes e após a imposição dos tratamentos. O índice de robustez foi obtido através da razão entre a altura da parte aérea e diâmetro de coleto. O teste da perda de eletrólitos dos tecidos radiculares foi realizado conforme metodologia proposta por Wilner (1955).

O potencial de crescimento de raízes foi obtido através do plantio de quatro mudas por repetição, ao final da aplicação dos tratamentos, em vasos de 3,4 dm<sup>3</sup> preenchidos com areia. As mudas permaneceram nos vasos por 28 dias sob irrigação diária. Após aquele período, foi quantificada a massa de matéria seca de raízes emergidas do torrão (LANDIS et al., 2010).

Posteriormente a aplicação dos tratamentos rustificativos, quatro mudas por repetição foram plantadas a campo, seguindo o delineamento em blocos ao acaso, respeitando-se os tratamentos impostos durante a fase de rustificação.

O plantio ocorreu em novembro de 2014 no município de Pato Branco, PR com latitude de 26° 13' 46" S e longitude de 52° 40' 14" O e altitude de 760 m. O clima da região de plantio é classificado como Cfa – clima subtropical úmido mesotérmico (IAPAR, 2000) e o solo como Latossolo Vermelho distroférrico (EMBRAPA, 2006).

Utilizou-se covas de 27 cm de diâmetro por 50 cm de profundidade em espaçamento de 3 x 2 m. A adubação de base constou de 100 g por cova da formulação 5N-25P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-25K<sub>2</sub>O. Os tratos culturais envolveram a roçada de plantas daninhas a cada 60 dias.

Aos 90 e 180 dias após o plantio foram avaliados a porcentagem de sobrevivência e os incrementos na altura e no diâmetro do coleto das mudas sobreviventes.

Os dados foram averiguados quanto à normalidade de distribuição dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk e submetidos à análise da variância com auxílio do software estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2011). Quando da existência de diferenças estatisticamente significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

## 2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O incremento na altura foi significativamente menor para mudas submetidas a flexões caulinares durante oito semanas, reduzindo em 76% a velocidade de crescimento em altura. Para mudas pulverizadas com metil jasmonato durante quatro ou oito semanas a redução foi em média de 42% em relação ao tratamento controle, e equivalendo a aplicação de flexões caulinares por quatro semanas (Tabela 1).

TABELA 1 - Incremento na altura (IH), no diâmetro do coleto (ID) e índice de robustez (IR) em mudas de *C. trichotoma* submetidas a estímulos mecânicos e aplicações de metil jasmonato.

TABLE 1 - Increment in height (IH), in stem diameter (ID) and strength index (IR) in *C. trichotoma* seedlings submitted to mechanical stimuli and methyl jasmonate applications.

Tratamento	IH	ID	IR
	cm	mm	cm mm <sup>-1</sup>
TEST	0,58 a	0,11 b	4,85 a
TIG4	0,24 b	0,24 a	4,50 b
TIG8	0,14 c	0,25 a	4,14 c
MJA4	0,33 b	0,22 a	4,52 b
MJA8	0,34 b	0,18 a	4,28 c
C.V. (%)	18,6	34,1	4,8

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

TEST = Testemunha; TIG4 = Flexões caulinares por quatro semanas; TIG 8 = Flexões caulinares por oito semanas; MJA = aplicações de metil jasmonato por quatro semanas; MJ8 = Aplicações de metil jasmonato por oito semanas.

Independentemente do método rustificativo aplicado por quatro ou oito semanas, observou-se um aumento médio de 102% no incremento em diâmetro do coleto, quando comparado ao tratamento controle (Tabela 1). Logo, o tratamento controle por externar maior velocidade de crescimento em altura e menor incremento em diâmetro resultou no maior valor para o índice de robustez, assim como o menor valor foi calculado para mudas submetidas a 20 flexões caulinares por oito semanas, estando associado à redução no crescimento em altura.

Os tratamentos rustificativos resultaram em uma redução média de 22% na matéria seca dos tecidos aéreos, em comparação ao tratamento controle (Tabela 2), sem contudo alterar o crescimento do sistema radicular. O mesmo comportamento

foi detectado para a perda de eletrólitos do sistema radicular, resultando numa redução de 40%.

Por ser de fácil mensuração e um método não destrutivo, a altura da muda é amplamente utilizada para estimar o padrão de qualidade de mudas de espécies florestais, enquanto o diâmetro de coleto é de fundamental importância na avaliação do potencial da muda para sobrevivência e crescimento após o plantio (HAASE, 2008). Mudanças com maior diâmetro de coleto, em geral, apresentam maior sobrevivência, principalmente por apresentarem maior capacidade de formação de novas raízes, como reportado por Del Campo et al. (2010) em mudas de *Quercus ilex* L.

Já para o potencial de crescimento de raízes foi observado um aumento médio 7 vezes maior em relação ao tratamento controle, independentemente do método aplicado (Tabela 2).

TABELA 2 – Massa de matéria seca da parte aérea (MSPA), massa de matéria seca de raízes (MSR), perda de eletrólitos de raízes (PER) e potencial de crescimento de raízes (PRR) em mudas de *C. trichotoma* submetidas a estímulos mecânicos e aplicações de metil jasmonato.

TABLE 2 - Shoot dry mass (MSPA), root dry mass (MSR), root electrolyte leakage (PER) and root regeneration potential (PRR) in *C. trichotoma* seedlings submitted to mechanical stimuli and methyl jasmonate applications.

Tratamento	MSPA	MSR	PER	PRR
	g/muda	g/muda	%	mg/muda
TEST	0,45 a	1,71 a	57,20 a	6,61 b
TIG4	0,35 b	1,66 a	31,70 b	48,37 a
TIG8	0,34 b	1,81 a	28,70 b	31,18 a
MJA4	0,35 b	1,53 a	43,10 b	64,19 a
MJA8	0,37 b	1,64 a	34,90 b	66,04 a
C.V. (%)	9,2	15,1	24,4	22,6

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

TEST = Testemunha; TIG4 = Flexões caulinares por quatro semanas; TIG 8 = Flexões caulinares por oito semanas; MJA = aplicações de metil jasmonato por quatro semanas; MJ8 = Aplicações de metil jasmonato por oito semanas.

Estímulos mecânicos em mudas podem desencadear uma série de respostas que foram conceituadas por Jaffe (1973) como tigmomorfogênese. Menor incremento em altura e maior incremento em diâmetro de coleto têm sido alterações comumente relatadas para diversas espécies lenhosas após sua submissão à ação mecânica, devido à redução do alongamento celular (KERN et al., 2005; DRANSKI,



2013; VOLKWEIS et al., 2014). Tais alterações podem estar relacionadas ao fato de perturbações mecânicas abrandarem o crescimento primário e estimularem o crescimento secundário das plantas (MOREL et al., 2012).

Kern et al. (2005) submetendo sete híbridos de *Populus trichocarpa* (Torr. & A. Gray) e *Populus deltoides* (Bartr. ex Marsh) a 20 flexões caulinares diárias por 80 dias, encontraram redução na altura, na biomassa da parte aérea e aumento no diâmetro de coleto para todos os híbridos em comparação com a testemunha.

As alterações resultantes no incremento em altura e diâmetro de coleto, oriundas tanto da aplicação de flexões caulinares como de metil jasmonato parecem estar relacionadas com a síntese de etileno. Biro e Jaffe (1984) afirmaram que perturbações mecânicas, tanto na forma de atrito como de ferimento, induzem a síntese de etileno em entrenós de *Phaseolus vulgaris* (L. cv. Cherokee Wax).

Trabalhos indicaram que o metil jasmonato induz a produção de etileno em diversos órgãos das plantas (FAN et al., 1998). Hudgins e Franceschi (2004) aplicaram diferentes concentrações de metil jasmonato no segundo nó de mudas de *Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii* e encontraram indução de produção de etileno nos entrenós acima e abaixo do nó tratado.

O etileno provoca redução de crescimento de plantas por promover, além da redução no transporte de auxinas, a reorganização de microtúbulos e microfibrilas de celulose da parede celular para uma posição longitudinal, resultando em redução de altura e espessamento do caule (KERBAUY, 2008). Corroborando com o exposto, Dranski et al. (2013) testaram a aplicação de etefon em mudas de *Pachystroma longifolium* (Ness). I.M. Johnst. e obtiveram redução de até 50% na altura das mudas e aumento no diâmetro de coleto de até 44% com aplicação de 600 mg L<sup>-1</sup>.

Já a quantificação dos íons que extravasam do tecido radicular consiste em uma forma de estimar a integridade da membrana celular das raízes. Dessa forma, quanto menor o valor observado para a perda de eletrólitos de raízes, maior a integridade na membrana da mesma (LANDIS et al., 2010). Os menores valores encontrados para a perda de eletrólitos de raízes em mudas de *C. trichotoma* sugerem que flexões caulinares e aplicações de metil jasmonato promovem deposição de substâncias osmoticamente ativas no sistema radicular como açúcares solúveis capazes de induzir tolerância a diversos estresses ambientais (GUO et al., 2010).

O potencial de crescimento de raízes foi significativamente menor para o tratamento controle, indicando que mudas submetidas aos diferentes métodos rustificativos tiveram a produção de novas raízes estimuladas. O teste de potencial de crescimento de raízes é preditivo do desempenho da muda a campo, e tem sido um bom indicador de qualidade de mudas, uma vez que seu resultado é a expressão de vários parâmetros fisiológicos, que culminam na habilidade de uma muda iniciar e alongar novas raízes em um dado período de tempo e condição ambiental tida como ótima ao crescimento (DAVIS e JACOBS, 2005; LANDIS et al., 2010). Desta forma, a capacidade de crescimento de novas raízes é determinante para que ocorra a conexão entre o sistema radicular da muda com o solo do local de plantio (GROSSNICKLE, 2012).

Portanto, ao final da fase de viveiro fica evidente que a aplicação de 20 flexões caulinares e a pulverização de metil jasmonato na concentração de  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  possibilita obter mudas com maior rusticidade, sendo o crescimento aéreo mais afetado com oito aplicações semanais.

Os métodos rustificativos aplicados não resultaram em maior sobrevivência das mudas em campo, tanto aos 90 como aos 180 dias do plantio. A porcentagem de sobrevivência foi de 97% e 95% aos 90 e 180 dias, respectivamente.

Os resultados obtidos após 90 dias do plantio indicaram ausência de significância para o incremento em altura. Já para o incremento em diâmetro do coleto, mudas submetidas a 20 flexões caulinares diárias durante oito semanas externaram maior incremento, resultando em um aumento de 107% em relação ao tratamento controle (Tabela 3).

Contudo, após 180 dias do plantio as taxas de crescimento em altura e no diâmetro do coleto foram potencializadas quando da aplicação de 20 flexões caulinares diárias ou da pulverização de metil jasmonato por oito semanas, resultando no aumento da velocidade de crescimento em altura e no diâmetro do coleto de 130% e 102%, respectivamente, em comparação ao tratamento controle.

TABELA 3 - Incremento na altura (IH) e no diâmetro do coleto (ID) em mudas de *C. trichotoma* submetidas a estímulos mecânicos e aplicações de metil jasmonato após 90 e 180 dias de plantio a campo.

TABLE 3 - Increment in height (IH) and in stem diameter (ID) in *C. trichotoma* seedlings subjected to mechanical stimuli and methyl jasmonate applications after 90 e 180 days of out planting.

Tratamento	IH (cm)	ID (mm)	IH (cm)	ID (mm)
	90 dias		180 dias	
TEST	23,87 a	2,89 b	25,81 b	4,52 b
TIG4	22,93 a	3,25 b	39,68 b	5,83 b
TIG8	39,09 a	5,98 a	62,05 a	8,84 a
MJA4	28,65 a	3,95 b	41,50 b	6,36 b
MJA8	23,78 a	4,15 b	56,80 a	9,34 a
C.V. (%)	30,0	30,4	24,9	28,3

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

TEST = Testemunha; TIG4 = Flexões caulinares por quatro semanas; TIG 8 = Flexões caulinares por oito semanas; MJA = aplicações de metil jasmonato por quatro semanas; MJ8 = Aplicações de metil jasmonato por oito semanas.

Aos 90 dias após o plantio a campo Dranski (2013) encontrou 25% de incremento em altura em mudas de *Pinus taeda* L. submetidas a 35 flexões diárias por trinta dias, e aumento de 28,2% no diâmetro de coleto em mudas tratadas com 23 flexões caulinares em relação ao tratamento controle, indicando que a imposição do tratamento na fase de viveiro potencializou o crescimento inicial de mudas a campo, o que corrobora com os resultados encontrados no presente estudo.

Os maiores incrementos observados na altura e no diâmetro de coleto em mudas tratadas com flexões caulinares e metil jasmonato durante oito semanas sugerem que o sucesso dos plantios florestais depende, dentre outras variáveis, da qualidade de mudas utilizadas na implantação do povoamento florestal, que por sua vez está relacionada com características morfofisiológicas das mesmas.

Dessa forma, os resultados indicaram que as alterações morfofisiológicas resultantes das flexões caulinares e da aplicação do regulador vegetal por oito semanas estão relacionadas com o melhor desempenho inicial das mudas a campo, e, portanto, a pulverização com metil jasmonato poderá substituir aplicação das flexões caulinares no viveiro, uma vez que as respostas fisiológicas evidenciadas nos tratamentos assemelham-se entre si.

## 2.6 CONCLUSÕES

Aplicações de flexões caulinares ou metil jasmonato por oito semanas são eficientes em promover a rustificação e melhorar o desempenho inicial a campo de mudas de *Cordia trichotoma*.

## REFERÊNCIAS

- BIRO, R.; JAFFE, M. J. Thigmomorphogenesis: ethylene evolution and its role in the changes observed in mechanically perturbed bean plants. **Physiologia Plantarum**, v.62, n.2, p.289-296, 1984.
- BRACK, P.; GRINGS, M. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**. Brasília, MMA, 2011. 936p.
- CAVIGLIONE, J. H.; KIIHL, L. R. B.; CARAMORI, P. H.; OLIVEIRA, D. **Cartas climáticas do Paraná**. Londrina: IAPAR, 2000. CD-ROM.
- DAVIS, A. S.; JACOBS, D. F. Quantifying root system quality of nursery seedlings and relationship to outplanting performance. **New Forests**, v.30, n.2-3, p.295-311, 2005.
- DEL CAMPO, A. D.; NAVARRO, R. M.; CEACERO, E. C. J. Seedling quality and field performance of commercial stocklots of containerized holm oak (*Quercus ilex*) in Mediterranean Spain: an approach for establishing a quality standard. **New Forests**, v.39, n.1, p.19-37, 2010.
- DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M.; JACOBS, D. F. Effect of ethephon on hardening of *Pachystroma longifolium* seedlings. **Revista Árvore**, v.37, n.3, p.401-407, 2013.
- DRANSKI, J. L. **Tigmomorfogênese na rustificação e sobrevivência em mudas de *Pinus taeda* L.** 2013. 107p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília, 2006. 306p.
- FAN, X.; MATHEIS, J. P.; FELLMAN, J. K. A role for jasmonates in climacteric fruitripening. **Planta**, v. 204, p. 444–449, 1998.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.
- GROSSNICKLE, S. C. Why seedlings survive: influence of plant attributes. **New Forests**, v.43, n.5-6, p.711-738, 2012.
- GUO, J.; YANGA, Y.; WANGA, G.; YANGA, L.; SUNA, W. Ecophysiological responses of *Abies fabri* seedlings to drought stress and nitrogen supply. **Physiologia Plantarum**, v.139, n.4, p.335-347, 2010.
- HAASE, D.L. Understanding forest seedling quality: measurements and interpretation. **Tree Planters Notes**, v.52, n.2, p.24-30, 2008.

HUDGINS, J. W.; FRANCESCHI, R. V. Methyl jasmonate-induced ethylene production is responsible for conifer phloem defense responses and reprogramming of stem cambial zone for traumatic resin duct formation. **Plant Physiology**, v.135, p.2134-2149, 2004.

IAPAR. INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. **Cartas climáticas do Paraná**. Londrina: IAPAR, 2000. CD-ROM.

JACOBS, D. F.; LANDIS, T. D. Hardening. In: DUMROESE, R.K.; LUNA, T.; LANDIS, T.D. (Eds.). **Nursery manual for native plants: Guide for tribal nurseries**. v.1. Washington: United States Department of Agriculture, Forest Service, 2009. p.217-228.

JAFFE, M. J. Thigmomorphogenesis: the response of plant growth and development to mechanical stimulation with special reference to *Bryonia dioica*. **Planta**, v.114, n.2, p.143-156, 1973.

KERBAUY, G.B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

KERN, A. K.; WERS, W. F.; TELEWSKI, W. F.; KOEHLER, L. Mechanical perturbation affects conductivity, mechanical properties and above ground biomass of hybrid poplars. **Tree Physiology**, v.25, n.10, p.1243-1251, 2005.

LANDIS, T. D.; DUMROESE, R. K.; HAASE, D. L. **The container tree nursery manual: seedling processing, storage, and out planting**. v.7. Washington: Department of Agriculture Forest Service, 2010.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 384p.

MOREL, P., CRESPEL, L., GALOPINC, G., MOULIAD, B. Effect of mechanical stimulation on the growth and branching of garden rose. **Scientia Horticulturae**, v.135, p.59-64, 2012.

ORO, P.; VOLKWEIS, R. C.; NEIVERTH W.; DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M. Aplicação de regulador vegetal na aclimatação de mudas de *Cariniana estrellensi*. **Cultivando o Saber**, v.5, n.4, p.103-112, 2011.

VOLKWEIS, R. C.; DRANSKI, J. A. L.; ORO, P.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M. Efeito da tigmomorfogênese na morfometria de mudas de *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch. **Ciência Florestal**, v.24, n.2, p.339- 342, 2014.

WILNER, J. Results of laboratory tests for winter hardiness of woody plants by electrolyte methods. **Proceedings American Horticultura Science**, v.66, p.93-99, 1955.

### **3 ARTIGO II: ESTÍMULO QUÍMICO E MECÂNICO NA RUSTIFICAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE MUDAS DE *Tabebuia roseo-alba***

#### **3.1 RESUMO**

Aplicações de estímulos mecânicos ou de reguladores vegetais durante a rustificação das mudas no viveiro promovem alterações morfológicas e fisiológicas relacionadas com a qualidade e o desempenho das mudas a campo. O trabalho objetivou avaliar os efeitos da aplicação de flexões caulinares e ácido jasmônico nas características morfofisiológicas e no crescimento inicial de mudas de *Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sandwith. As mudas foram submetidas a 20 flexões caulinares diárias por 4 e 8 semanas e aplicações semanais de  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  de ácido jasmônico também por 4 e 8 semanas, além da condução de um tratamento controle, em delineamento de blocos casualizados. A aplicação de ácido jasmônico por 8 semanas resultou em maior incremento no diâmetro de coleto em comparação com o tratamento controle. Mudas flexionadas diariamente por 8 semanas apresentaram menor número de folhas, massa de matéria seca da parte aérea e área foliar em relação aos demais tratamentos. O tratamento controle externou maior extravasamento de eletrólitos do tecido radicular em relação às mudas estimuladas por meio físico ou químico. O teor de clorofila total foi significativamente menor nos tratamentos com 8 semanas de flexões e 4 semanas de aplicações de regulador em comparação com a testemunha. Após o plantio no campo, foram observadas diferenças no incremento em altura e diâmetro do caule no nível do solo entre os diferentes períodos de avaliação. No entanto, não houve diferença naqueles parâmetros e na porcentagem de sobrevivência entre os diferentes tratamentos. Este fato indica que os métodos rustificativos testados no trabalho não foram eficientes em melhorar o desempenho das mudas nas condições em que foram plantadas.

Palavras-chave: ácido jasmônico, tigmomorfogênese, ipê-branco.

## ARTICLE III: CHEMICAL AND MECHANICAL STIMULUS IN HARDENING AND INITIAL GROWTH OF *Tabebuia roseo-alba* SEEDLINGS

### 3.2 ABSTRACT

Applications of mechanical stimuli or plant regulators during the rustification of seedlings in the nursery promote morphological and physiological changes related to the quality and performance of the seedlings in the field. The essay evaluated the effects of stem bending and jasmonic acid on the morphometric and physiological characteristics of *Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sandwith. seedlings. We tested 20 daily stem brushing and weekly applications of  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  of jasmonic acid for 4 or 8 weeks. Seedling treated with jasmonic acid for 8 weeks resulted in higher increment in stem diameter compared to control seedlings. Stem bending for 8 weeks resulted in seedling with fewer leaves and less aboveground dry biomass compared to the other treatments. The results of electrolyte leakage from root tissues of control seedlings showed higher value compared to results from seedlings subjected to either physical or chemical treatments. Total chlorophyll content was significantly reduced in leaves from seedling submitted to stem brushing for 8 weeks and application of jasmonic acid for 4 weeks compared to the control seedlings. After planting in the field differences were observed in height and stem diameter between the different evaluation periods, but there was no difference in those parameters and percentage of survival among different treatments. Therefore, the tested hardening methods did not improve seedling performance under the essay conditions.

Key words: jasmonic acid, tigmomorphogenesis, ipê-branco.



### 3.3 INTRODUÇÃO

*Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sandwith., conhecida popularmente como ipê-branco ou pau d'arco, pertencente à família Bignoneaceae, é uma espécie lenhosa nativa da flora brasileira de ocorrência predominantemente na Floresta Estacional Semidecidual. A espécie é descrita como decídua que ocorre tanto na mata primária como em formações secundárias (IBGE, 2002; DUBOC, 2004). A espécie possuiu um valor de importância de 3,26 em fragmento de Floresta Estacional Semidecidual no estado de Pernambuco (HOLANDA et al., 2010) e de 2,6 em Floresta Estacional Semidecidual Submontana no estado do Mato Grosso do Sul (URBANETZ et al., 2012), indicando sua ampla distribuição e importância naquela fitofisionomia, o que justifica a sua propagação para fins conservacionistas.

O sucesso de plantios florestais depende de uma série de fatores como época de plantio, material genético, espécie utilizada, tratos culturais, eventos agroclimáticos e da qualidade das mudas produzidas, que precisam resistir aos muitos fatores adversos a que serão submetidas no pós-plantio. O conceito de qualidade de mudas varia em função das espécies e dos sítios específicos em que serão plantadas, portanto, não se trata de um conceito absoluto (CARNEIRO, 1995). Contudo, a mensuração de características morfológicas, fisiológicas e dos atributos de desempenho podem se relacionar com o desenvolvimento a campo em diferentes situações (RITCHIE et al., 2010).

Com o intuito de aclimatar as mudas para as condições a campo, uma série de práticas podem ser adotadas no viveiro para aumentar o percentual de sobrevivência e crescimento, com consequente redução dos tratos culturais (JABOBS e LANDIS, 2009). Aplicações de estímulos mecânicos ou de reguladores vegetais promovem alterações morfológicas e fisiológicas desejáveis durante a fase de viveiro, principalmente por resultar em mudas com menor altura e maior diâmetro de coleto (KERN et al., 2005; ORO et al., 2012; VOLKWEIS et al., 2014).

Entre os reguladores vegetais que podem ser utilizados na rusticificação de mudas está o ácido jasmônico. Os jasmonatos são sintetizados a partir do ácido linolênico e representam um grupo de hormônio vegetal que induz a expressão de genes envolvidos na resistência a patógenos e insetos e que modulam a senescência de plantas, a abscisão foliar e o desenvolvimento de embriões. O nível

endógeno de ácido jasmônico varia em função do tecido, logo a aplicação exógena de jasmonatos causa mudanças na maioria das células das plantas (COLLI, 2012).

O estímulo mecânico como método rustificativo tem sido estudado principalmente na forma de aplicações de flexões caulinares em mudas (KERN et al., 2005; VOLKWEIS et al., 2014; DRANSKI et al., 2015). As respostas a tais estímulos foram conceituadas por Jaffe (1973) como tigmomorfogênese, e incluem redução na altura e aumento no diâmetro de coleto, reduzindo a relação entre aqueles dois atributos (DRANSKI, 2013; VOLKWEIS et al., 2014). Apesar da sua eficácia em promover a rustificação em mudas de muitas espécies, sua operacionalização nos viveiros ainda é difícil, o que justifica o estudo de outros métodos rustificativos de maior praticidade, como a aplicação de reguladores vegetais.

O trabalho objetivou avaliar os efeitos da aplicação de flexões caulinares e ácido jasmônico nas características morfofisiológicas e no crescimento inicial de mudas de *Tabebuia roseo-alba*.

### 3.4 MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de *T. roseo-alba* foram coletadas em outubro de 2014 em três matrizes localizadas na região oeste do estado do Paraná, município de Entre Rios do Oeste. As sementes foram misturadas e semeadas em novembro de 2014 em tubetes de 120 cm<sup>3</sup> preenchidos com substrato comercial com incorporação de fertilizante de liberação controlada (18N-6P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-10K<sub>2</sub>O) na proporção de 3,0 kg m<sup>-3</sup> de substrato.

Os tubetes foram acomodados em suportes plásticos com capacidade de ocupação de 96 tubetes e permaneceram em ambiente protegido não climatizado, recoberto com filme de polietileno de baixa densidade e anti-UV de 150 micra de espessura, resultando em 20% de sombreamento, localizado a 24° 55' 83" S e 54° 04' 56" O.

O clima da região, conforme Köppen é caracterizado como tipo Cfa, subtropical, com temperatura média no mês mais frio inferior a 18 °C e temperatura média no mês mais quente acima de 22 °C, com geadas pouco frequentes e tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, contudo, sem estação seca definida (CAVIGLIONE et al., 2000).

A imposição dos tratamentos iniciou após 130 dias da emergência das plântulas. Naquele momento, as mudas apresentavam altura média de 11,7 cm e diâmetro de coleto de 3,89 mm. A temperatura média durante esse período foi de 20,3 °C e a umidade relativa do ar foi 80,6%.

O delineamento experimental durante a fase de viveiro foi o de blocos ao acaso com cinco repetições de dezesseis mudas, que foram submetidas aos seguintes tratamentos: testemunha com água deionizada + tensoativo não iônico aplicados semanalmente; TIG4: 20 flexões diárias por 4 semanas + água deionizada e tensoativo não iônico aplicados semanalmente; TIG8: 20 flexões diárias por 8 semanas + água deionizada e tensoativo não iônico aplicados semanalmente; JA4: 1 μmol L<sup>-1</sup> de ácido jasmônico + água deionizada + tensoativo não iônico aplicados semanalmente por 4 semanas; JA8: 1 μmol L<sup>-1</sup> de ácido jasmônico + água deionizada + tensoativo não iônico aplicados semanalmente por 8 semanas.

Durante as primeiras 4 semanas, as mudas que não foram tratadas permaneceram sob irrigação. Tanto na formação das mudas quanto na imposição

dos tratamentos a irrigação ocorreu por aspersão duas vezes ao dia com lâmina de água de 10 mm.

As flexões caulinares compreenderam estímulos mecânicos efetuados diariamente através da passagem em sentido único de uma estrutura composta por uma barra de cano de PVC com 25 mm de diâmetro disposta horizontalmente e fixada em uma estrutura metálica com rolamentos. As mudas foram flexionadas verticalmente não mais do que 45° mediante a passagem da barra no terço inferior da folhagem, sempre no mesmo horário, a uma velocidade de 0,10 m seg<sup>-1</sup> (VOLKWEIS et al., 2014)

A aplicação do regulador de crescimento foi realizada uma vez por semana através de pulverizações foliares de ácido jasmônico na concentração de 1 µmol L<sup>-1</sup>, com volume equivalente a 6 mL por muda, ponto em que iniciou o escorrimento foliar. As soluções foram constituídas de ácido jasmônico, água deionizada e tensoativo não iônico, aplicadas com pulverizador costal manual.

Ao final do período de imposição dos tratamentos foram selecionadas ao acaso doze mudas por repetição para as determinações do número de folhas, dos incrementos na altura da muda e no diâmetro do coleto e da relação entre altura e diâmetro do coleto (índice de robustez). A altura da muda foi obtida com régua graduada a partir do nível do substrato até a gema apical e o diâmetro do coleto mensurado com o auxílio de um paquímetro digital. Os incrementos foram calculados pela diferença entre os valores antes e após a imposição dos tratamentos. O índice de robustez foi obtido através da razão entre a altura e diâmetro de coleto.

Adicionalmente, foram selecionadas ao acaso quatro mudas por repetição para a determinação das massas de matéria seca de raízes e dos tecidos aéreos, do índice de qualidade de Dickson, da área foliar, da perda de eletrólitos dos tecidos radiculares e o teor dos pigmentos clorofilianos. As massas de matéria seca de raízes e dos tecidos aéreos foram obtidas através de secagem em estufa de circulação de ar a 65° C durante 72 h. O teste da perda de eletrólitos dos tecidos radiculares foi realizado conforme metodologia proposta por Wilner (1960) e modificada por Mckay (1992). A área foliar foi determinada pelo método dos discos foliares e o índice de qualidade de Dickson de acordo com Dickson et al. (1960).

Quatro mudas por repetição foram escolhidas ao acaso e utilizadas para a determinação do potencial de crescimento de raízes. As mudas foram plantadas ao

final da aplicação dos tratamentos em vasos de 3,4 dm<sup>3</sup> preenchidos com areia. As mudas permaneceram nos vasos por 28 dias sob irrigação diária. Após aquele período, foi quantificada a massa de matéria seca de novas raízes emergidas do torrão (RITCHIE et al., 2010).

As concentrações de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila *a* + *b* foram determinadas através de metodologia proposta por Arnon (1949) e modificada por Barbieri Junior et al. (2010), com a supressão das fases de trituração e centrifugação. Foram utilizadas quatro amostras foliares de 3 cm<sup>2</sup>, escolhidas ao acaso, totalizando 12 cm<sup>2</sup>, que permaneceram acondicionadas por 48 horas em 10 mL de acetona 80% a 25 °C. Após aquele período, foram retiradas alíquotas de 3 mL e obtidos os valores de absorvância nos comprimentos de 645 e 663 nm em espectrofotômetro e os valores expressos em  $\mu\text{mol m}^{-2}$ .

Uma semana após a aplicação dos tratamentos, quatro mudas por repetição foram plantadas a campo também em delineamento de blocos ao acaso. O plantio ocorreu em julho de 2015 em área experimental localizada em Marechal Cândido Rondon, PR. Os dados climáticos foram obtidos da estação meteorológica de observação de superfície automática localizada nas imediações da área experimental.

O solo local é classificado como Latossolo Vermelho eutrófico (EMBRAPA, 2006) e apresentava os seguintes atributos na camada de 0-20 cm: MO: 130,0 g dm<sup>-3</sup>, P(Mehlich): 3,28 mg dm<sup>-3</sup>, K (Mehlich): 0,50 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, pHCaCl<sub>2</sub>: 5,7, H+Al: 2,26 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, Ca: 4,6 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, Mg: 2,10 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, SB: 7,2 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> e V: 76,11%.

Covas de 27 cm de diâmetro por 50 cm de profundidade em espaçamento de 3 metros entre linhas e 1 metro entre plantas foram utilizadas para o plantio. Os tratamentos culturais consistiram de roçadas e coroamento das mudas quando necessário.

Aos 90, 180, 270 e 360 dias após o plantio foram avaliados a porcentagem de sobrevivência e os incrementos na altura e no diâmetro do caule ao nível do solo das mudas sobreviventes. Na avaliação dos incrementos no campo, os dados foram analisados em esquema de parcelas subdivididas no tempo, compreendendo os cinco tratamentos na parcela e os quatro períodos de avaliação na subparcela.

Os dados foram averiguados quanto à normalidade de distribuição dos resíduos e homogeneidade das variâncias pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett e posteriormente submetidos à análise da variância. Quando da existência de diferenças estatisticamente significativas, as médias foram comparadas pelo teste

de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Por não apresentarem normalidade de distribuição dos resíduos, os dados de sobrevivência no campo foram submetidos ao teste de Friedman. Posteriormente, foi calculado o coeficiente de correlação de Spearman entre os incrementos em altura e diâmetro das mudas no campo e os elementos climáticos durante o período avaliativo a 5% de probabilidade de erro.

### 3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao final da imposição dos tratamentos não houve diferença ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos para o incremento em altura ( $0,16 \pm 0,02$  cm), índice de robustez ( $2,66 \pm 0,04$ ), índice de qualidade de Dickson ( $1,3 \pm 0,05$ ), massa de matéria seca do tecido radicular ( $1.324 \pm 68$  mg) e potencial de crescimento de raízes ( $3,74 \pm 1,1$  mg). Cadourin et al. (2015) encontraram diferenças no incremento em altura, índice de robustez e potencial de crescimento de raízes em mudas de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud pulverizadas com metil jasmonato e submetidas a estímulos mecânicos durante a primavera em relação ao tratamento controle, o que indica que diferentes espécies podem responder de formas distintas aos estímulos impostos na fase de viveiro e os efeitos podem variar conforme a época do ano em que o estímulo é aplicado.

A exemplo, Oro et al. (2012) não encontraram diferenças nos incrementos em altura e diâmetro de coleto em mudas de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze tratadas ou não com etefon, ao passo que Dranski et al. (2013) constataram redução em 50% no incremento em altura e aumento em 44% no incremento em diâmetro de coleto em mudas de *Pachystroma longifolium* (Ness) I. M. Johnst. pulverizadas com  $600 \text{ mg L}^{-1}$  de etefon em comparação ao tratamento controle. Adicionalmente, segundo Chehab et al. (2009) respostas semelhantes ocorrem em plantas estimuladas mecanicamente, porém em graus muito variados dependendo da espécie.

O incremento no diâmetro do coleto foi significativamente maior em mudas pulverizadas com ácido jasmônico durante 8 semanas em comparação com o tratamento controle e mudas submetidas a flexões caulinares por 8 semanas (Tabela 1). O aumento no diâmetro de coleto é uma alteração desejada após a rustificação de mudas (JACOBS e WILKINSON, 2009) e segundo Ritchie et al. (2010) é um ótimo preditor não destrutivo do desenvolvimento de mudas após o plantio a campo. Em mudas de *Pinus elliottii* Engelm. var. *elliottii* L. and D., Bacon et al. (1977) encontraram maiores incrementos em altura e maior porcentagem de sobrevivência a campo em mudas que apresentaram maior diâmetro de coleto no momento de plantio. De forma contrária, observaram maior índice de mortalidade em mudas com maior altura da parte aérea.

Frequentemente, as respostas da perturbação mecânica incluem redução no alongamento celular, com conseqüente redução nos incrementos em altura em diversas espécies, além do estímulo ao crescimento secundário, com conseqüente aumento no diâmetro de coleto em algumas plantas (MOREL et al., 2012; DRANSKI, 2013; VOLKWEIS et al., 2014). Tal comportamento não foi encontrado no presente estudo, sendo que a aplicação de estímulos mecânicos não resultou em modificações morfométricas em mudas de *T. roseo-alba*.

Possivelmente o aumento no diâmetro de coleto encontrado em mudas tratadas com ácido jasmônico esteja relacionado com a síntese de etileno. A aplicação exógena de jasmonatos pode incrementar a biossíntese do hormônio devido à ativação da sintase ou oxidase do 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) (VIEIRA et al., 2010). A ACC sintase é a enzima catalizadora da conversão da S-adenosilmetionina (AdoMet) a ACC e seu nível pode ser regulado por vários fatores internos e ambientais. A ACC oxidase catalisa a conversão do ACC em etileno na última etapa de síntese do hormônio (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Em *Pseudotsuga menziesii* (Mirb) Franco, a aplicação de metil jasmonato no segundo nó das mudas resultou na indução de produção de etileno nos entrenós acima e abaixo do nó tratado, devido ao aumento na atividade da ACC oxidase, conforme reportado por Hudgins e Franceschi (2004). Fan et al. (1998) encontraram aumento na atividade da ACC sintase e oxidase, bem como na biossíntese de etileno em frutos de *Malus domestica* Borkh Cv. Golden Delicious e *Lycopersicon esculentum* Mill. Cv. Cobra após aplicação de metil jasmonato nas concentrações de 1 e 10  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .

O etileno é responsável por vários comportamentos no desenvolvimento das plantas e entre seus efeitos está a expansão lateral das células. O etileno modifica a orientação das microfibrilas de celulose da parede celular através da mudança na orientação dos microtúbulos, promovendo a expansão lateral em vez do alongamento (TAIZ e ZEIGER, 2013). O aumento no incremento do diâmetro de coleto com a aplicação de etileno foi observado por Dranski et al. (2013) que encontraram aumento de 44% em mudas de *Pachystroma longifolium* aspergidas com 600  $\text{mgL}^{-1}$  de etefon em relação às mudas não aspergidas com o regulador.



TABELA 1 - Incremento no diâmetro do coleto (ID), número de folhas (NF), área foliar (AF), massa seca aérea (MSA) e perda de eletrólitos de raízes (PER) em mudas de *T. roseo-alba* submetidas a estímulos mecânicos e aplicações de ácido jasmônico.

TABLE 1 - Increment in stem diameter (ID), number of leaves (NF), leaf area (AF), shoot dry mass (MSA) and root electrolyte leakage (PER) in *T. roseo-alba* seedlings submitted to mechanical stimuli and jasmonic acid applications.

Tratamento	ID	NF	AF	MSA	PER
	mm/planta		cm <sup>2</sup> /planta	mg/planta	%
TEST	0,17 b	4,33 a	65,35 a	799,11 a	28,12 a
TIG4	0,23 ab	2,83 b	36,81 b	637,31 a	20,57 b
TIG8	0,16 b	1,54 c	15,16 c	387,88 b	20,48 b
JA4	0,21 ab	4,28 a	50,76 ab	774,71 a	21,19 b
JA8	0,28 a	4,01 a	63,94 a	824,40 a	18,92 b
CV(%)	27,43	12,99	19,72	13,25	18,78

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

TEST = Testemunha; TIG4 = Flexões caulinares por quatro semanas; TIG 8 = Flexões caulinares por oito semanas; JA4 = aplicações de ácido jasmônico por quatro semanas; JA8 = aplicações de ácido jasmônico por 8 semanas.

Em todos os tratamentos rustificativos a perda de eletrólitos do tecido radicular foi significativamente menor quando comparada à testemunha (Tabela 1). Em trabalho conduzido com a aplicação de etileno em mudas de *Cariniana estrellensis* Oro et al. (2012) encontraram menor perda de eletrólitos em mudas tratadas com 100, 200 e 300 mg L<sup>-1</sup> do regulador vegetal em relação ao tratamento sem aplicação de etileno. Em mudas de *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch, Volkwels et al. (2014) encontraram redução linear da perda de eletrólitos de raízes com aplicações crescentes (0, 5, 10, 20 e 40) de flexões caulinares por 30 dias.

Clarke et al. (2009) concluíram que a aplicação de 5 µmol L<sup>-1</sup> de metil jasmonato em *Arabidopsis thaliana* L. reduziu o extravasamento de eletrólitos da parte aérea em plantas estressadas termicamente. Plantas de *Solanum lycopersicum* L. cv. Zheza infectadas com nematóide tiveram o extravasamento de eletrólitos de raízes reduzido em 50% com a aplicação de 100 µmol L<sup>-1</sup> de metil jasmonato por sete dias (ZHOU et al., 2015).

O tratamento de folhas de mudas de *Hordeum vulgare* L. cv. Golden Promise com metil jasmonato culminou em significativos aumentos nos níveis de poliaminas na planta (WALTERS et al., 2002). Conforme Kubis et al. (2014) as poliaminas podem estar envolvidas no mecanismo adaptativo das plantas à várias tensões ambientais. Aqueles autores trataram mudas de *Cucumis sativus* cv. Dar em

condição de restrição hídrica com poliaminas e encontraram redução no extravasamento de eletrólitos de raízes em até 20% em relação a mudas não tratadas. Segundo Monteiro et al. (2014) o acúmulo de poliaminas e prolínas nas plantas contribuem para a preservação da integridade de proteínas, enzimas e membranas celulares em plantas submetidas à estresses, através do ajuste osmótico, eficaz mecanismo na manutenção da turgescência celular.

McKay (1992) encontrou forte correlação negativa (-0,90) entre perda de eletrólitos de raízes e sobrevivência de mudas de *Picea sitichencis* (Bong.) Car., *Pseudotsuga menziessi* (Mirbel) Franco e *Larix leptolepis* (Sieb. & Zucc.) Gord e argumentou que a deterioração de raízes finas pode ser uma das principais causas de falhas no desenvolvimento das mudas após o plantio.

No presente estudo, as mudas que foram submetidas aos estímulos hormonal e mecânico apresentaram menor extravasamento de íons através das membranas celulares, indicando maior integridade das membranas de raízes com menos de 2 mm de diâmetro. O resultado acima permite inferir que as mudas rustificadas pelos diferentes métodos têm maior capacidade de resistir aos danos ocasionados pelos estresses do pós-plantio mantendo a integridade das membranas das raízes mais finas.

A aplicação de flexões caulinares por 8 semanas reduziu o número de folhas, a área foliar e a massa seca da parte aérea em relação aos demais tratamentos (Tabela 1). Sete híbridos de *Populus trichocarpa* (Torr. & A. Gray) e *Populus deltoides* (Bartr. ex Marsh) foram flexionados 20 vezes ao dia por 80 dias e apresentaram redução da massa seca da parte aérea e da área foliar, a semelhança do encontrado no presente estudo (KERN et al., 2005).

Assim como as respostas à aplicação de jasmonatos, os efeitos das flexões caulinares parecem estar relacionados com a síntese de etileno. Biro e Jaffe (1984) afirmaram que estímulos mecânicos, em forma de atrito ou ferimento, induziram a síntese de etileno em entrenós de *Phaseolus vulgaris* L. cv. Cherokee Wax. O etileno age como principal regulador do processo de abscisão foliar (TAIZ e ZEIGER, 2013) e a aplicação do regulador resultou em redução da área foliar em mudas de *Cariniana estrellensis*, fato que os autores creditaram à redução do número de folhas (ORO et al., 2012).

As reduções na área foliar por planta e na massa de matéria seca da parte aérea em mudas flexionadas por 8 semanas provavelmente são reflexos da

abscisão foliar. A redução no conteúdo de clorofilas em plantas flexionadas por 8 semanas e também em plantas pulverizadas com ácido jasmônico, sem contudo, haver redução na massa de matéria seca da parte aérea das últimas, permite inferir que não houve redução na eficiência fotossintética das mudas (Tabela 2).

A degradação da clorofila foi relatada por Porter et al. (2009), que flexionaram mudas de *Carica papaya* L. três vezes ao dia por 25 dias e observaram redução de mais de 50% no conteúdo de clorofila do hipocótilo. Para Coutand (2010), as reduções nos níveis de clorofila associadas à perturbação mecânica podem diminuir a atividade fotossintética das plantas, o que explica a redução na taxa de crescimento de diversas espécies, embora não explique o maior incremento em diâmetro de coleto frequentemente relatado como resposta tigmomorfogenética.

TABELA 2 - Clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila *a + b* em mudas de *T. roseo-alba* submetidas a estímulos mecânicos e aplicações de ácido jasmônico.

TABLE 2 - Chlorophyll *a*, Chlorophyll *b* and Chlorophyll *a + b* in *T. roseo-alba* seedlings submitted to mechanical stimuli and jasmonic acid applications.

Tratamento	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila <i>a + b</i>
	$\mu\text{mol m}^{-2}$	$\mu\text{mol m}^{-2}$	$\mu\text{mol m}^{-2}$
TEST	214,38 a	84,98 a	299,37 a
TIG4	174,61 ab	80,25 a	254,86 ab
TIG8	101,95 c	48,64 b	150,60 c
JA4	145,14 bc	66,57 ab	211,71 bc
JA8	155,27 bc	74,47 ab	229,74 abc
CV(%)	15,25	16,67	15,63

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

TEST = Testemunha; TIG4 = Flexões caulinares por quatro semanas; TIG 8 = Flexões caulinares por oito semanas; JA4 = aplicações de ácido jasmônico por quatro semanas; JA8 = aplicações de ácido jasmônico por 8 semanas.

O conteúdo de clorofila *a* e clorofila *a + b* também diferiram entre mudas controle e aspergidas com ácido jasmônico. A redução das clorofilas como resultado da aplicação de jasmonatos foi observada por Giuli (2006) em plantas de *Ricinus communis* L. tratadas com seis aplicações de metil jasmonato na concentração de 1 mmol L<sup>-1</sup>, que apresentaram redução de 43% no conteúdo de clorofila total em relação às plantas não tratadas. Reduções nos conteúdos de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila *a + b* foram reportadas por Anjum et al. (2011) em plantas de *Glycine max* L. Merrill e por Jung (2004) em plantas *Arabidopsis thaliana* L. tratadas com metil jasmonato.

Conforme Vieira et al. (2010), a aplicação exógena de jasmonatos promove efeitos associados com o processo de senescência das plantas, entre eles a degradação da clorofila, o que também foi reportado por Sánchez (2008). Segundo exposto por Zhu et al. (2015) em estudo conduzido com *Arabidopsis thaliana* L., para ser degradada, a clorofila *b* precisa ser reduzida a clorofila *a* através da ação da clorofilase *b* redutase. A degradação da clorofila *a* envolve então a ação da feoforbídeo *a* oxigenase (PAO) e a redutase da via dependente da ferrofopina (RCCR). Naquele estudo, os autores indicaram que os jasmonatos ativam a ação de genes catabólicos de clorofila responsáveis pela transcrição da PAO.

As reduções nos conteúdos de clorofila *a* e clorofila *a* + *b* observadas nos tratamentos com aplicações de ácido jasmônico provavelmente não foram intensas a ponto de interferir negativamente na fotofosforilação em mudas de ipê-branco, visto que não houve redução na massa de matéria seca da parte aérea das plantas e da área foliar (Tabela1).

No ensaio a campo não houve interação ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos rustificativos e as épocas de avaliações das mudas. A perturbação mecânica e o estímulo químico na fase de viveiro não resultaram em diferenças nos incrementos em altura e diâmetro do caule ao nível do solo após o plantio, bem como não exerceram influência na sobrevivência (95%) das mudas 360 dias após o plantio.

Cadorin et al. (2015) encontraram melhor desempenho após 180 dias de plantio em mudas de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud submetidas a 20 flexões caulinares diárias e aplicações semanais de metil jasmonato por oito semanas em relação a mudas não tratadas. Dranski et al. (2015) reportaram maiores incrementos no diâmetro de coleto e volume de caule em mudas de *Pinus taeda* L. flexionadas 10 e 20 vezes diariamente por 60 dias em comparação à mudas não flexionadas aos 90 dias após o plantio.

A baixa mortalidade de mudas, (apenas 5%), e a ausência de diferença significativa entre os tratamentos no desempenho a campo pode ser um indicativo de que as mudas não tenham encontrado situações climáticas e edáficas adversas (Figura 1) que pudessem evidenciar diferenças na qualidade das mesmas. Landhausser et al. (2012) testaram o desempenho de mudas de *Populus tremuloides* Michx com diferentes características em diferentes épocas e condições de plantio e afirmaram que as diferenças no desempenho foram mais pronunciadas em condições ambientais mais estressantes.

Além do mais, a indicação da espécie *T. rosea-alba* para recuperação de áreas degradadas e sua adaptabilidade a locais secos e pedregosos (LORENZI, 2002) indicam que a espécie é rústica e dessa forma justifica-se que mesmo mudas não rustificadas tenham demonstrado bom desempenho pós plantio.

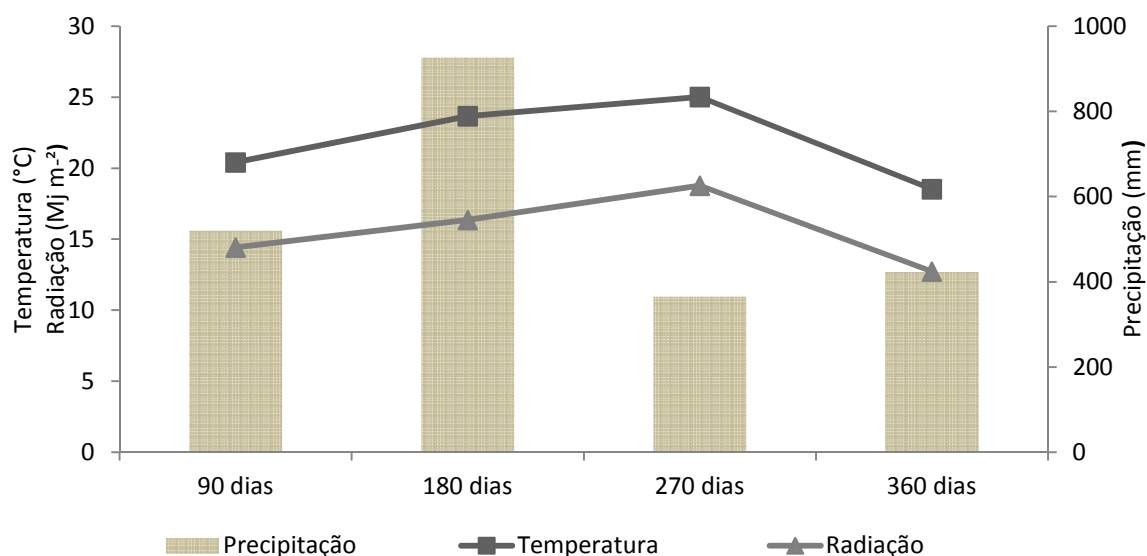


Figura 1 - Precipitação acumulada e médias de temperatura do ar e radiação solar na microrregião de Marechal Cândido Rondon/PR em 2015 e 2016.

Figure 1 - Accumulated precipitation and averages of air temperature and solar radiation in microregion of Marechal Cândido Rondon/PR in 2015 and 2016.

Em trabalho conduzido por Silva (2007), foi testado o plantio de 19 espécies para recuperação de área degradada no bioma Cerrado. *Tabebuia roseo-alba* foi a quarta espécie que apresentou maior sobrevivência após 10 meses de plantio (89%), sendo considerada por aquele autor como recomendável para recuperação de áreas degradadas. Também no Cerrado, Antezana (2008) encontrou 100% de sobrevivência de mudas de *Tabebuia roseo-alba* após 12 meses do plantio, submetidas ou não à roçagem e à adubação orgânica, reforçando assim a rusticidade da espécie.

O conceito de qualidade de mudas não é absoluto e difere entre espécies e entre sítios de plantio. A exemplo, Ritchie et al. (2010) afirmaram que mudas maiores, com maior área fotossintética, apresentam melhor desempenho em locais com maior competição interespecífica, ao passo que a utilização de mudas menores, com maior diâmetro e sistema radicular mais desenvolvido são indicadas para o plantio em locais secos e pedregosos.

Diferenças nos incrementos em altura e diâmetro do caule ao nível do solo foram evidenciadas entre as diferentes épocas de avaliação. Os maiores incrementos ocorreram na avaliação aos 270 dias pós-plantio (Tabela 3).

TABELA 3 - Incremento na altura (IH) e no diâmetro do colo ao nível do solo (ID) em mudas de *T. roseo-alba* aos 90, 180, 270 e 360 dias após o plantio.

TABLE 3 - Increment in height (IH) and in stem diameter (ID) in *T. roseo-alba* seedlings at 90, 180, 270 and 360 days after planting.

Avaliações	IH	ID
	cm/planta	mm/planta
90 dias	9,52 c	1,06 c
180 dias	28,85 b	5,14 b
270 dias	50,81 a	8,82 a
360 dias	9,04 c	1,97 c
CV(%)	23,95	28,00

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Essa avaliação correspondeu aos incrementos relativos ao terceiro trimestre, composto pelos meses de janeiro, fevereiro e março. Provavelmente o maior incremento naquele trimestre tenha relação com as condições climáticas então ocorridas (Figura 1). A relação entre os incrementos e os eventos climáticos pode ser visualizada na Tabela 4.

TABELA 4 - Coeficiente de correlação de Spearman entre incremento em altura (IH), incremento em diâmetro (ID) de mudas de *Tabebuia roseo-alba* e as variáveis climáticas durante o período avaliativo a campo.

TABLE 4 - Spearman correlation coefficient between height increase (IH), increment in diameter (ID) of *Tabebuia roseo-alba* seedlings and climatic variables during the field evaluation period.

	Temperatura	Precipitação	Radiação
IH	0,98**	-0,20 ns	0,99**
ID	0,80 ns	-0,40 ns	0,80 ns

\*\* , significativo a 1% de probabilidade e, ns, não significativo.

As médias da radiação solar e da temperatura foram maiores no terceiro período avaliativo (18,78 Mj m<sup>-2</sup> e 25°C) em relação aos demais trimestres (Figura 1), e não houve períodos de severas estiagens, o que provavelmente está relacionado com a atividade fotossintética e consequente crescimento das mudas, apesar da

correlação de Spearman ter indicado significância apenas entre incremento em altura e radiação solar e temperatura (Tabela 4).

### 3.6 CONCLUSÕES

Mudas de *T. roseo-alba* tratadas com ácido jasmônico apresentaram maior incremento em diâmetro de coleto em comparação ao tratamento controle.

A perda de eletrólitos do tecido radicular foi maior para o tratamento controle e aplicações de ácido jasmônico e flexões caulinares resultaram em degradação da clorofila.

Mudas flexionadas por oito semanas apresentaram menor área foliar e menor massa de matéria seca da parte aérea.

A perturbação mecânica através de flexões caulinares e as aplicações de ácido jasmônico nas doses e tempos testados não influenciaram no desenvolvimento e na sobrevivência de mudas de *Tabebuia roseo-alba* após o plantio.



## REFERÊNCIAS

ANJUM, S. A.; XIE, X.; FAROOQ, M.; WANG, L.; XUE, L.; SHAHBAZ, M.; SALHAB, J. Effect of exogenous methyl jasmonate on growth, gas exchange and chlorophyll contents of soybean subjected to drought. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n.47, p. 9640-9646, 2011.

ANTEZANA, F.L. **Crescimento inicial de 15 espécies nativas do bioma cerrado sob diferentes condições de adubação e roçagem, em Planaltina – DF**. 2008. 104p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in beta vulgaris. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 24, n. 1, p. 1-15, 1949.

BARBIERI JUNIOR, A.; ROSSIELLO, R. O. P.; MORENZ, M. J. F.; RIBEIRO, R. C. Comparação de métodos diretos de extração e quantificação dos teores de clorofilas em folhas do capim-Tifton 85. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 3, p. 633-636, 2010.

BACON, G. J.; HAWKINS, P. J.; JERMYN, D. Morphological Grading Studies with 1-0 Slash Pine Seedlings. **Australian Forestry**, v.40, n.4, p.293-303, 1977.

BIRO, R.; JAFFE, M. J. Thigmomorphogenesis: ethylene evolution and its role in the changes observed in mechanically perturbed bean plants. *Physiologia Plantarum*, v.62, n.2, p.289-296, 1984.

CADORIN, D. A.; MALAVASI, U. C.; COUTINHO, P. W. R.; DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, M. M. Metil jasmonato e flexões caulinares na rustificação e crescimento inicial de mudas de *Cordia trichotoma*. **Cerne**, Lavras, v. 21, n.4, p.657-664, 2015.

CARNEIRO, J. G. de A. **Produção e controle de qualidade de mudas florestais**. Curitiba: UFPR/FUPEF, 1995. 451 p.

CAVIGLIONE, J. H.; KIIHL, L. R. B.; CARAMORI, P. H.; OLIVEIRA, D. Cartas climáticas do Paraná. Londrina: IAPAR, 2000. CD-ROM.

CHEHAB, E. W.; EICH, E.; BRAAM, J. Thigmomorphogenesis: a complex plant response to mechano-stimulation. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 1, p. 43-56, 2009.

CLARKE, S. H.; CRISTESCU, S. M.; MIERSCH, O.; HARREN, F. J. M.; WASTWRNACK, C.; MUR, L. A. J. Jasmonates act with salicylic acid to confer basal thermotolerance in *Arabidopsis thaliana*. **New Phytologist**, v.182, p.175-187, 2009.

COLLI, S. Outros Reguladores: brassinosteróides, poliaminas, ácidos jasmônico e salicílico. In: KERBAUY, G. B. (ed). **Fisiologia Vegetal**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012, p. 337-338.

COUTAND, C. Mechanosensing and thigmomorphogenesis, a physiological and biomechanical point of view. **Plant Science**, v. 179, p. 168-182, 2010.

DICKSON, A. et al. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **The Forestry Chronicle**, v.1, p.10-13, 1960.

DRANSKI, J. L. Tigmomorfogênese na rustificação e sobrevivência em mudas de *Pinus taeda* L. 2013. 107p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2013.

DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M.; JACOBS, D. F. Effect of ethephon on hardening of *Pachystroma longifolium* seedlings. *Revista Árvore*, Viçosa, v.37, n.3, p.401-407, 2013.

DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M. Relationship between lignin content and quality of *Pinus taeda* seedlings. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 39, n.5, p.905-913, 2015.

DUBOC, I. **Cultivo de espécies nativas do bioma cerrado**. Planaltina. Embrapa Cerrados, 2004. 10 p. (Embrapa Cerrados. Circular Técnica 110).

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3.ed. Brasília, 2013. 353p.

FAN, X; MATHEIS, J. P; FELLMAN, J. K. A role for jasmonates in climacteric fruitripening. **Planta**, v.204, p.444–449, 1998.

GIULI, J. S. A. **Avaliação dos efeitos provocados por metil jasmonato em *Ricinus communis* através de análises do perfil protéico e rendimento fotossintético**. 2006. 80p. Dissertação (Mestrado em Biociência e Biotecnologia) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Goytacazes, 2006.

HOLANDA, A. C.; PESSOA, M. M. L.; MELO, C. L. S. M.; SANTOS, M. S.; MARANGON, L. C.; FELICIANO, A. L. P. Estrutura de espécies arbóreas sob efeito de borda em um fragmento de floresta estacional semidecidual em Pernambuco. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 34, n. 1, p. 103-114, 2010.

HUDGINS, J. W.; FRANCESCHI, R. V. Methyl jasmonate-induced ethylene production is responsible for conifer phloem defense responses and reprogramming of stem cambial zone for traumatic resin duct formation. **Plant Physiology**, v.135, p.2134-2149, 2004.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Árvores do Brasil Central: espécies da região geoeconômica de Brasília**, v.1. Rio de Janeiro: IBGE, Diretoria de Geociências, 2002. 417p.

JACOBS, D. F.; LANDIS, T. D. Hardening. In: DUMROESE, R. K.; LUNA, T.; LANDIS, T. D. (Eds.). **Nursery manual for native plants: guide for tribal nurseries**. v.1. Washington: United States Department of Agriculture, Forest Service, 2009. p.216-228.

JACOBS, D. F.; WILKINSON, K. M. Planning Crops and Developing Propagation Protocols. In: DUMROESE, R. K.; LUNA, T.; LANDIS, T.D. (Eds.). **Nursery manual for native plants**: guide for tribal nurseries. v.1. Washington: United States Department of Agriculture, Forest Service, 2009. p.32-54.

JAFFE, M.J. Thigmomorphogenesis: the response of plant growth and development to mechanical stimulation with special reference to *Bryonia dioica*. **Planta**, v.114, n.2, p.143-156, 1973.

JUNG, S. Effect of chlorophyll reduction in *Arabidopsis thaliana* by methyl jasmonate or norflurazon on antioxidant systems. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 42, p.225–231, 2004.

KERN, A. K.; WERS, W. F.; TELEWSKI, W. F.; KOEHLER, L. Mechanical perturbation affects conductivity, mechanical properties and above ground biomass of hybrid poplars. *Tree Physiology*, v.25, n.10, p.1243-1251, 2005.

KUBIS, J.; FLORYSZAK-WIECZOREK, J.; Arasimowicz-Jelonek, M. Polyamines induce adaptive responses in water deficit stressed cucumber roots. **Journal of Plant Research**, v.127, p. 151-158, 2014.

LANDHAUSSER, S. M.; ALAVREZ, J. R.; MARENHOLTZ, E. H.; LIEFFERS, V. J. Effect of stock type characteristics and time of planting on field performance of aspen (*Populus tremuloides* Michx.) seedlings on boreal reclamation sites. **New Forests**, v. 43, p. 679-693, 2012.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. v.1. 384p.

MCKAY, H. M. Electrolyte leakage from fine roots of conifer seedlings: a rapid index of plant vitality following cold storage. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 22, p. 1371-1377, 1992.

MONTEIRO, J. G.; CRUZ, F. J. R.; NARDIN, M. B.; SANOS, D. M. M. Crescimento e conteúdo de prolina em plântulas de guandu submetidas à estresse osmótico e à putrescina exógena. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, n.1, p. 18-25, 2014.

MOREL, P.; CRESPEL, L.; GALOPINC, G.; MOULIAD, B. Effect of mechanical stimulation on the growth and branching of garden rose. **Scientia Horticulturae**, v.135, p.59-64, 2012.

ORO, P.; VOLKWEIS, R. C.; NEIVERTH, W.; DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M. Aplicação de regulador vegetal na aclimação de mudas de *Cariniana estrellensi*. **Cultivando o Saber**, Cascavel, v.5, n.4, p.103-112, 2012.

PORTER, B. W.; ZHU, Y. J.; WEBB, D. T.; CHRISTOPHER, D. A. Novel thigmomorphogenetic responses in *Carica papaya*: touch decreases anthocyanin levels and stimulates petiole cork outgrowths. **Annals of Botany**, n.103, p.847-858, 2009.

RITCHIE, G. A.; LANDIS, T. D.; DUMROESE, R. K.; HAASE, D. L. Assessing Plant Quality. In: LANDIS, T.D.; DUMROESE, R. K.; HAASE, D. L. (Eds.). **The container tree nursery manual: seedling processing, storage, and outplanting.** v.7. Washington: Department of Agriculture Forest Service, 2010, p.19-81.

SÁNCHEZ, F. E. Jasmonatos: compuestos de alto valor para la agricultura. Parte I. Actividad biológica y ruta Biosintética Del ácido jasmónico em plantas. **ICIDCA**, n.3, p.51-59, 2008.

SILVA, J.C.S. **Desenvolvimento inicial de espécies lenhosas, nativas e de uso múltiplo na recuperação de áreas degradadas de cerrado sentido restrito no Distrito Federal.** 2007. 120p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013, 918p.

URBANETZ, C., LEHN, C. R., SALIS, S. M., BUENO, M. L., ALVES, F. M. Composição e distribuição de espécies arbóreas em gradiente altitudinal, morraria do Urucum, Brasil. **Oecologia Australis**, v.16, n.4, p.859-877, 2012.

VIEIRA, E. L; SOUZA, G. L; SANTOS, A. R; SILVA, J. S. **Manual de fisiologia vegetal.** São Luis: EDUFMA, 2010, 230p.

VOLKWEIS, R. C.; DRANSKI, J. A. L.; ORO, P.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M. Efeito da tigmomorfogênese na morfometria de mudas de *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch. **Ciência Florestal**, v.24, n.2, p.339-342, 2014.

ZHOU, J.; JIA, F.; SHAO, S.; ZHANG, H.; LI, G.; XIA, X.; ZHOU, Y.; YU, J.; SHI, K. Involvement of nitric oxide in the jasmonate-dependent basal defense against root-knot nematode in tomato plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n.193, p.1-9, 2015.

ZHU, X.; CHEN, J.; XIE, Z.; GAO, J.; REN, G.; GAO, S.; ZHOU, X.; KUAI, B. Jasmonic acid promotes degreening via MYC2/3/4- and ANAC019/055/072-mediated regulation of major chlorophyll catabolic genes. **The Plant Journal**, v.84, p.597-610, 2015.

WALTERS, D.; COWLEY, T.; MITCHELL, A. Methyl jasmonate alters polyamine metabolism and induces systemic protection against powdery mildew infection in barley seedlings. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 369, p. 747-756, 2002.

WILNER, J. Relative and absolute electrolyte conductance tests for frost hardiness of apple varieties. **Canadian Journal of Plant Science**, v.40, p.630-637, 1960.

## 4 ARTIGO III: MODULAÇÃO DO TEOR DE LIGNINA EM MUDAS DE *Cordia trichotoma* e *Tabebuia roseo-alba* RUSTIFICADAS COM ESTÍMULOS QUÍMICOS E MECÂNICOS

### 4.1 RESUMO

A lignina exerce diversas funções nas plantas terrestres. Está relacionada com o suporte mecânico, com a fluidez do transporte de água pelo xilema e com a resistência ao ataque de pragas e infecção por patógenos. O trabalho objetivou determinar a concentração de lignina e correlacioná-la com o desempenho em campo em mudas de *Cordia trichotoma* e *Tabebuia roseo-alba* rustificadas através de pulverizações de jasmonatos e aplicações de flexões caulinares. As mudas de *C. trichotoma* foram submetidas a 20 flexões diárias por 4 semanas e por 8 semanas; pulverizações de 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de metil jasmonato aplicados semanalmente por 4 semanas e por 8 semanas e um tratamento controle. As mudas de *Tabebuia roseo-alba* foram submetidas a 20 flexões diárias por 4 semanas e por 8 semanas; pulverização de 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de ácido jasmônico aplicados semanalmente por 4 semanas e por 8 semanas e um tratamento controle. A aplicação de jasmonatos ou de flexões caulinares no viveiro promoveu aumento na concentração de lignina do tecido caulinar em mudas de *Cordia trichotoma* e *Tabebuia roseo-alba*, mas não induziu maior lignificação no sistema radicular. No campo, mudas das duas espécies não externaram diferenças na concentração de lignina da parte aérea entre os diferentes tratamentos testados após 450 e 360 dias do plantio. Foi constatado efeito direto positivo do teor de lignina do tecido caulinar e o desempenho a campo em mudas de *Cordia trichotoma*.

Palavras-chave: ipê-branco; louro-pardo, tigmomorfogênese, jasmonatos.

## ARTICLE III: MODULATION OF LIGNIN CONTENT IN *Cordia trichotoma* and *Tabebuia roseo-alba* SEEDLINGS RUSTIFIED WITH CHEMICAL AND MECHANICAL STIMULI

### 4.2 ABSTRACT

Lignin exercise many functions of extreme importance in terrestrial plants. It is related to mechanical support, fluidity of water transport by xylem and resistance to pest attack and infection by pathogens. The work aimed to determine the concentration of lignin and to correlate it with quality attributes in *Cordia trichotoma* and *Tabebuia roseo-alba* seedlings through sprays of jasmonates and applications of stem bending. *Cordia trichotoma* seedlings was sbmitted to 20 stem bendig daily for 4 weeks and for 8 weeks; pulverization of 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$  of methyl jasmonate applied for 4 weeks and for 8 weeks and a control tratament. *Tabebuia roseo-alba* seedlings was submitted to 20 stem bendig daily for 4 weeks and for 8 weeks; pulverization of 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ of acid jasmonic applied for 4 weeks and for 8 weeks and a control tratament. The application of jasmonates or stem bending in the nursery promoted an increase in the lignin concentration of shoots in *Cordia trichotoma* and *Tabebuia roseo-alba*, but did not induce a greater lignification in the root system. In the field, seedlings of both species showed no differences in shoot lignin concentration between the different treatments tested. A positive direct effect of the lignin content of the stem tissue and the field performance on *Cordia trichotoma* were observed.

Key words: ipê-branco; louro-pardo, thigmomorphogenesis, jasmonates.

### 4.3 INTRODUÇÃO

*Cordia trichotoma* (Vell.) Arrab. ex Steud, conhecida popularmente como louro-pardo é uma espécie nativa da flora brasileira, de ocorrência desde o Ceará até o Rio Grande do Sul, presente predominantemente nas Florestas Estacional Decidual e Semidecidual. Trata-se de espécie lenhosa pioneira, com potencial utilização para fins ambientais e produtivos (BRACK e GRINGS, 2011). *C. trichotoma* possui valor de importância de 6,36 em fragmento da Floresta Estacional Decidual no estado do Rio Grande do Sul (LONGHI et al., 1999) e de 1,73 em fragmento de mata ciliar no estado de Pernambuco (OLIVEIRA et al., 2009a).

*Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sandwith, também nativa da flora brasileira, é conhecida como ipê-branco e ocorre predominantemente na Floresta Estacional Semidecidual. A espécie ocorre tanto em formações primárias como secundárias, é decídua e se adapta bem em terrenos secos e pedregosos, com potencial utilização para fins conservacionistas (IBGE, 2002; DUBOC, 2004).

A espécie *Tabebuia roseo-alba* apresentou valor de importância de 2,6 em Floresta Estacional Semidecidual Submontana no estado do Mato Grosso do Sul (URBANETZ et al., 2012) e de 3,26 em fragmento de Floresta Estacional Semidecidual no estado de Pernambuco (HOLANDA et al., 2010). Assim, a ampla ocorrência das duas espécies naquelas fitofisionomias justifica a produção de mudas para fins conservacionistas.

É crescente a demanda por mudas de espécies lenhosas nativas para recompor áreas em situação de risco ambiental, degradadas pelo uso inadequado de solos ou atividade agropecuária. Nesse sentido, o plantio florestal parece ser uma das melhores opções na recuperação destas áreas. Contudo, um dos entraves na atividade florestal consiste na disponibilidade de material propagativo de qualidade e em quantidade suficientes. Dessa forma, justifica-se a necessidade de pesquisas acerca de técnicas eficientes de formação de mudas de espécies nativas (BELLOTTO et al., 2009; GARLIPP e FOELKEL, 2009).

Durante a formação de mudas no viveiro, o manejo é direcionado para atender as necessidades de cada fase de desenvolvimento do propágulo. Ao final do ciclo de produção, comumente as mudas são submetidas a um conjunto de técnicas que constituem a fase de rustificação. Naquela fase, normalmente ocorre redução

na frequência de irrigação e adubação, exposição a diferentes níveis de luminosidade e poda das raízes. O intuito do processo de rustificação é aclimatar as mudas para as condições que serão encontradas a campo, e dessa forma reduzir a mortalidade e estimular os ganhos em incremento (LIMA et al., 2014; OLIVEIRA, 2016).

Como forma de mensurar a qualidade de mudas que são expedidas do viveiro, consideram-se características morfológicas e fisiológicas preditoras do desenvolvimento a campo, tais como altura, diâmetro de coleto, massa de matéria seca da parte aérea e raízes, potencial de formação de novas raízes e perda de eletrólitos do tecido radicular (CARNEIRO, 1995; RITCHIE et al., 2010).

Por outro lado, a concentração de lignina em espécies lenhosas não é reconhecidamente um atributo de qualidade de mudas. Contudo, é sabido que aquela molécula desempenha importantes funções nos vegetais (MALAVASI et al., 2016). Depois da celulose, a lignina é a substância orgânica mais abundante nas plantas. Trata-se de uma macromolécula fenólica que apresenta diversas funções, como proporcionar rigidez necessária à manutenção da verticalidade do caule e garantir a existência de vias rápidas de circulação da água através do xilema. Além do suporte mecânico, a lignina está relacionada com a defesa vegetal contra herbívoros, uma vez que é dificilmente digerível por esses animais (MONTEIRO et al., 2004; TAIZ e ZEIGER, 2013). Dessa forma, é razoável inferir que haja relação entre a concentração de lignina e qualidade de mudas.

A concentração de lignina em mudas de espécies lenhosas é passível de modulação através de estímulo físico e química durante a fase de rustificação. Dranski et al. (2015) reportaram alterações significativas no teor de lignina tanto no sistema radicular quanto na parte aérea em mudas de *Pinus taeda* L. submetidas a diferentes intensidades de estímulos mecânicos.

Os efeitos do estímulo mecânico em mudas na fase de viveiro têm sido pesquisados principalmente através da imposição de flexões caulinares (KERN et al., 2005; VOLKWEIS et al., 2014; DRANSKI et al., 2015), que desencadeiam uma série de respostas morfométricas nas plantas conceituadas por Jaffe (1973) como tigmomorfogênese.

O estímulo mecânico é de difícil operacionalização nos viveiros, o que justifica a utilização de outros métodos como a aplicação de reguladores vegetais na rustificação de mudas, também responsáveis por alterações na biossíntese de



lignina em plantas. Em experimento conduzido por Oliveira et al. (2009b), aplicações de ácido jasmônico resultaram em aumento do teor de lignina em *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake.

O ácido jasmônico e seu metil éster metil jasmonato fazem parte de uma classe de hormônios conhecida como jasmonatos. Os jasmonatos são sintetizados nas plantas a partir do ácido linolênico e sua biossíntese depende da ação sequencial de várias enzimas (COLLI, 2012). Nas plantas esse grupo de hormônios exerce efeitos semelhantes aos do etileno e do ácido abscísico ao induzirem a expressão de genes envolvidos na resistência a patógenos e insetos, estimularem a formação de tubérculos e provocarem senescência e abscisão de folhas com degradação da clorofila (VIEIRA et al., 2010; COLLI, 2012).

Dessa forma, o trabalho objetivou determinar a concentração de lignina e correlacioná-la com o desempenho a campo em mudas de *Cordia trichotoma* e *Tabebuia roseo-alba* rustificadas através de pulverizações de jasmonatos e aplicações de flexões caulinares.

## 4.4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.4.1 Experimento com *Cordia trichotoma*

Mudas de *Cordia trichotoma* foram propagadas em tubetes de 120 cm<sup>3</sup> preenchidos com mistura de substrato comercial a base de casca de pinus e solo local na proporção de 4:1 (v.v.) com incorporação de fertilizante de liberação controlada (18N-5P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-9K<sub>2</sub>O) na proporção de 1,44 kg m<sup>-3</sup> de substrato. Os tubetes foram acomodados em suportes plásticos com capacidade de 96 tubetes e durante a fase de formação as mudas permaneceram em 50% de sombreamento.

Os tratamentos foram aplicados em mudas conduzidas em ambiente protegido não climatizado localizado a 24° 55' 83" S e 54° 04' 56" O no período de setembro a novembro de 2014.

Os valores de umidade relativa e temperatura do ar durante a aplicação dos tratamentos foram obtidos diariamente com o auxílio de um termo-higrômetro digital. A temperatura média do ambiente no momento da aplicação dos tratamentos foi de 26,3 °C, e a umidade relativa do ar de 51%. Durante este período as mudas permaneceram em ambiente protegido não climatizado recoberto com filme de polietileno de baixa densidade e anti-UV de 150 micra de espessura, resultando em 20% de sombreamento.

Quando as mudas apresentaram altura média de 15,0 cm e diâmetro de coleto de 3,22 mm os tratamentos foram impostos. O delineamento experimental foi o inteiramente ao acaso com cinco repetições de quatorze mudas, que foram submetidas aos seguintes tratamentos: testemunha com água deionizada + tensoativo não iônico aplicados semanalmente; TIG4: 20 flexões diárias por 4 semanas + água deionizada e tensoativo não iônico aplicados semanalmente; TIG8: 20 flexões diárias por 8 semanas + água deionizada e tensoativo não iônico aplicados semanalmente; MJ4: 50 µmol L<sup>-1</sup> de metil jasmonato + água deionizada + tensoativo não iônico aplicados semanalmente por 4 semanas; MJ8: 50 µmol L<sup>-1</sup> de metil jasmonato + água deionizada + tensoativo não iônico aplicados semanalmente por 8 semanas.

A aplicação de flexões caulinares e metil jasmonato nos tratamentos que consistiram em apenas 4 semanas de imposição de estímulos ocorreu nas últimas

semanas em relação aos tratamentos que receberam estímulos por 8 semanas. Durante as primeiras quatro semanas, as mudas que não foram tratadas permaneceram sob irrigação por aspersão duas vezes ao dia com lâmina de água de 10 mm.

As flexões caulinares compreenderam estímulos mecânicos efetuados diariamente através da passagem em sentido único de uma estrutura composta por uma barra de cano de PVC com 25 mm de diâmetro disposta horizontalmente e fixada em uma estrutura metálica com rolamentos. As mudas foram flexionadas verticalmente não mais do que 45° mediante a passagem da barra no terço inferior da folhagem, sempre no mesmo horário, a uma velocidade de 0,10 m seg<sup>-1</sup> (VOLKWEIS et al., 2014).

A aplicação do regulador de crescimento foi realizada uma vez por semana através de pulverizações foliares de metil jasmonato na concentração de 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , com volume equivalente a 7 mL por muda, ponto em que iniciou o escorrimento foliar. As soluções foram constituídas de metil jasmonato, água deionizada e tensoativo não iônico, aplicadas com pulverizador costal manual.

Ao final do período de imposição dos tratamentos foram selecionadas ao acaso seis mudas por repetição para determinação da perda de eletrólitos dos tecidos radiculares conforme Wilner (1960) e determinação da concentração de lignina dos tecidos aéreos e radiculares seguindo o modelo de extração por detergente ácido proposto por Van Soest (1994). A determinação da concentração de lignina ocorreu somente no caule, eliminando-se folhas e pecíolos para a análise.

Os tecidos radiculares e caulinares foram secos a 60 °C durante 72 h e moídos em moinho tipo Willye. Posteriormente, 0,5 g de amostra foi acondicionada em sacos de TNT (tecido não tecido) selados em máquina seladora e acomodados em frascos plásticos preenchidos com solução FDA (20 g de brometo de cetiltrimetil amônio + 27,4 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, diluídos em 1000 mL) na proporção de 40 mL por saco. Os sacos foram autoclavados a 100 °C por 20 min. e posteriormente repetidamente lavados em água corrente quente e fria e imersos em Acetona P.A na proporção de 30 mL por saco. Após secagem em estufa a 105 °C por 8 h os sacos foram pesados.

Para a extração da lignina, os sacos foram imersos em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 72% por 3 h e em seguida repetidamente lavados em água corrente quente e fria, secos a 105°C por 8h e pesados. Após pesagem os sacos de TNT foram acondicionados em

cadinhos de porcelana previamente pesados, carbonizados em mufla a 550 °C por 3 h e novamente pesados. O teor de lignina foi obtido a partir da Equação 1:

$$\text{Lignina (\%)} = \frac{[(\text{Res}_{As} - \text{Res}_c) * (100/2 * \text{MA})]}{\text{MA}} \quad (1)$$

Em que: Res<sub>As</sub> = matéria seca resultante da digestão sulfúrica;

Res<sub>c</sub>: matéria seca resultante da carbonização;

MA = matéria seca inicial.

Foram selecionadas também ao acaso quatro mudas por repetição para determinação do potencial de crescimento de raízes. As mudas foram plantadas em vasos de 3,4 dm<sup>3</sup> preenchidos com areia onde permaneceram por 28 dias sob irrigação diária. Após aquele período, foi quantificada a massa seca de novas raízes emergidas do torrão (RITCHIE et al., 2010).

Adicionalmente, quatro mudas por repetição foram plantadas a campo seguindo o delineamento em blocos ao acaso e respeitando-se os tratamentos impostos durante a fase de rustificação. O plantio ocorreu em novembro de 2014 em área com latitude de 26° 13' 46" S, longitude de 52° 40' 14" O e altitude de 760 m, no município de Pato Branco-PR. O clima da região de plantio é classificado como Cfa – clima subtropical úmido mesotérmico (IAPAR, 2000) e o solo como Latossolo Vermelho distroférico (EMBRAPA, 2006).

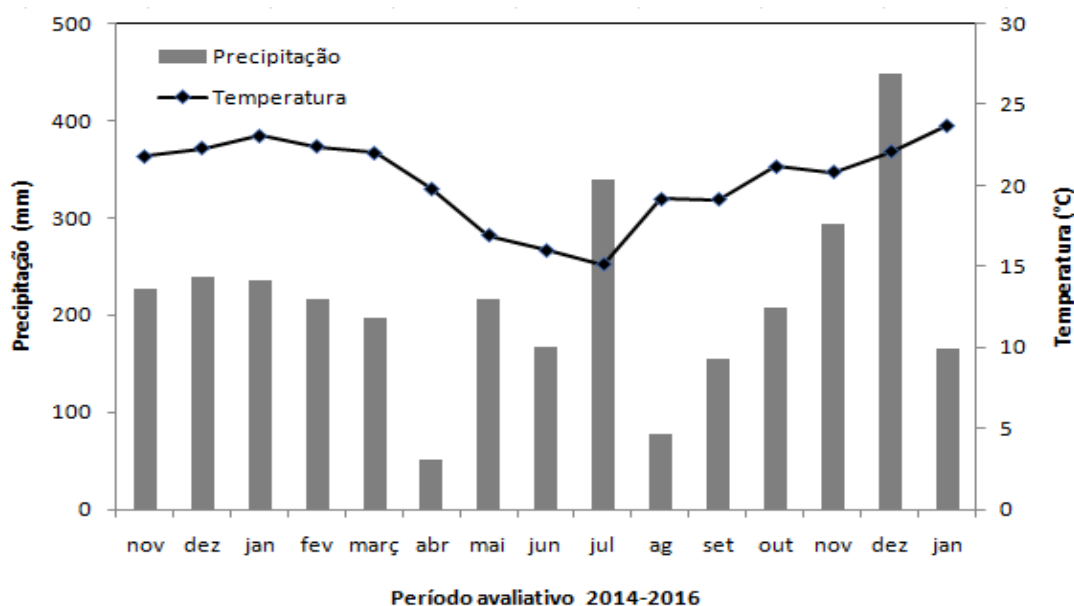
No momento do plantio o solo do local apresentava os seguintes atributos na camada de 0-20 cm: MO: 26,8 g dm<sup>-3</sup>, P(Mehlich): 1,97 mg dm<sup>-3</sup>, K (Mehlich): 0,13 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, pH<sub>CaCl<sub>2</sub></sub>: 5,3, H+Al: 2,26 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, Ca: 5,0 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, Mg: 2,30 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, SB: 7,43 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> e V: 68,48%.

Foram utilizadas covas de 27 cm de diâmetro por 50 cm de profundidade em espaçamento de 3 m entre linhas e 2 m entre plantas. A adubação de base constou de 100 g por cova da formulação 5N-25P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-25K<sub>2</sub>O. Os tratos culturais envolveram a roçada de plantas daninhas e o coroamento das mudas conforme necessidade.

Após 450 dias do plantio, no momento em que as plantas apresentavam altura média de 141 cm foi realizado o corte das mesmas a uma altura de 30 cm do solo. Foram utilizados aproximadamente 10 cm do caule acima da linha do corte para nova determinação do teor de lignina conforme metodologia proposta por Van

Soest (1994). Naquele momento foram também calculados os incrementos em altura e diâmetro de caule ao nível do solo e a porcentagem de sobrevivência das mudas.

Os dados climáticos dos meses em que as plantas permaneceram no campo foram fornecidos pelo Instituto Tecnológico Simepar (Figura 1).



**Figura 1** - Precipitação acumulada e média de temperatura do ar na microrregião de Pato Branco/PR em 2014-2016. Fonte: Instituto Tecnológico Simepar.

**Figure 1** – Accumulated precipitation and average of air temperature in microregion of Pato Branco/PR in 2014-2016. Fonte: Instituto Tecnológico Simepar.

#### 4.4.2 Experimento com *Tabebuia roseo-alba*

Sementes de *Tabebuia roseo-alba* foram coletadas em outubro de 2014 em três matrizes localizadas na região oeste do estado do Paraná, no município de Entre Rios do Oeste. As sementes foram misturadas e homogeneizadas e semeadas em novembro de 2014, em tubetes de 120 cm<sup>3</sup> preenchidos com substrato comercial com incorporação de fertilizante de liberação controlada (18N-6P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-10K<sub>2</sub>O) na proporção de 3,0 kg m<sup>-3</sup> de substrato.

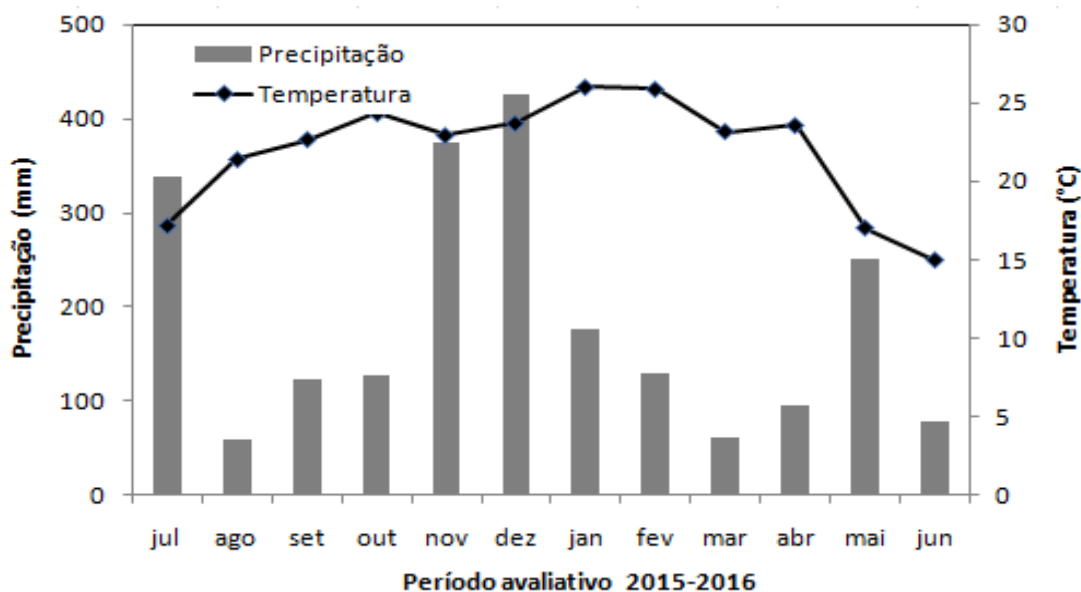
A produção de mudas de *Tabebuia roseo-alba* utilizou os mesmos procedimentos e infra-estrutura descritos em 4.4.1. A imposição dos tratamentos iniciou após 130 dias da emergência das plântulas, quando as mudas apresentavam altura média de 11,7 cm e diâmetro de coleto de 3,89 mm. A temperatura média durante esse período foi de 20,3 °C e a umidade relativa do ar de 80,6%.

O delineamento experimental durante a fase de viveiro foi o de blocos ao acaso com cinco repetições de dezesseis mudas submetidas aos tratamentos já detalhados anteriormente.

A aplicação do regulador de crescimento foi realizada uma vez por semana através de pulverizações foliares de ácido jasmônico na concentração de  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ , com volume equivalente a 6 mL por muda, ponto em que iniciou o escorrimento foliar. A aplicação das flexões caulinares ocorreu da mesma forma do primeiro experimento.

Ao final do período de imposição dos tratamentos foram selecionadas ao acaso quatro mudas por repetição para determinação da perda de eletrólitos do tecido radicular (WILNER, 1960) e do teor de lignina pelo método de extração por detergente ácido proposto por Van Soest (1994). Adicionalmente, quatro mudas por repetição foram utilizadas para determinação do potencial de crescimento de raízes (RITCHIE et al., 2010).

Quatro mudas por repetição foram plantadas a campo também em delineamento de blocos ao acaso. O plantio ocorreu em julho de 2015 em área com coordenadas geográficas  $24^{\circ} 33' 22''$  S,  $54^{\circ} 31' 24''$  O. Os dados climáticos foram obtidos da estação meteorológica de observação de superfície automática localizada nas imediações da área experimental (Figura 2).



**Figura 2** - Precipitação acumulada e média de temperatura do ar na microrregião de Marechal Cândido Rondon/PR em 2015 e 2016.

**Figure 2** - Accumulated precipitation and average of air temperature in microregion of Marechal Cândido Rondon/PR in 2015 and 2016.

O solo local é classificado como Latossolo Vermelho eutrófico (EMBRAPA, 2013) e apresentava os seguintes atributos: MO: 130,0 g dm<sup>-3</sup>, P (Mehlich): 3,28 mg dm<sup>-3</sup>, K (Mehlich): 0,50 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, pHCaCl<sub>2</sub>: 5,7, H+Al: 2,26 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, Ca: 4,6 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, Mg: 2,10 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, SB: 7,2 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> e V: 76,11%.

Covas de 27 cm de diâmetro por 50 cm de profundidade em espaçamento de 3 m entre linhas e 1 m entre plantas foram utilizadas para o plantio. Os tratamentos culturais consistiram de roçadas e coroamento das mudas quando necessário.

Após 360 dias do plantio, no momento em que as plantas apresentavam altura média de 104 cm foi realizado o corte das mesmas a uma altura de 30 cm do solo. Foram utilizados aproximadamente 10 cm do caule acima da linha do corte para nova determinação do teor de lignina conforme metodologia proposta por Van Soest (1994). Naquele momento foram também calculados os incrementos em altura e diâmetro de caule ao nível do solo e a porcentagem de sobrevivência das mudas.

Os dados foram averiguados quanto à normalidade de distribuição dos resíduos e homogeneidade das variâncias pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett e posteriormente submetidos à análise da variância. Quando da existência de diferenças estatisticamente significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Com base nos resultados das variáveis avaliadas no viveiro e de desempenho a campo após 450 dias para *C. trichotoma* e 360 dias para *T. roseo-alba*, calculou-se a matriz de correlações simples entre as variáveis e em seguida realizou-se o diagnóstico de multicolinearidade, com base no número de condição (NC) e pelo fator de inflação da variância. Posteriormente realizou-se a análise de trilha, em que a taxa de sobrevivência, o incremento na altura e no diâmetro ao nível do solo foram considerados como variáveis dependentes. Para a realização das análises estatísticas foi utilizado o programa GENES (CRUZ, 2001).



#### 4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aplicações de flexões caulinares durante 8 semanas resultaram em maior teor de lignina no caule em mudas de *Cordia trichotoma* e *Tabebuia roseo-alba* em relação aos tratamentos controle e aplicações de jasmonatos por 4 semanas (Tabela 1), incrementando em 21% e 26% o teor, respectivamente.

TABELA 1 - Teor de lignina nos tecidos caulinares em mudas de *Cordia trichotoma* e *Tabebuia roseo-alba* rustificadas com flexões caulinares e aplicações de jasmonatos.

TABLE 1 - Lignin content in aboveground tissues in *Cordia trichotoma* and *Tabebuia roseo-alba* seedlings rustified with stem swying and jasmonates applications.

<i>C. trichotoma</i>	Lignina (%)	<i>T. roseo-lba</i>	Lignina (%)
TEST	10,28 b	TEST	17,63 b
TIG4	11,77 ab	TIG4	20,97 ab
TIG8	12,43 a	TIG8	22,30 a
MJ4	11,45 b	JA4	18,24 b
MJ8	12,45 a	JA8	20,92 ab
CV(%)	7,55	CV(%)	8,75

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

TEST = Testemunha; TIG4 = Flexões caulinares por quatro semanas; TIG 8 = Flexões caulinares por oito semanas; MJA = aplicações de metil jasmonato por quatro semanas; MJ8 = Aplicações de metil jasmonato por oito semanas; JA4 = aplicações de ácido jasmônico por quatro semanas; JA8 = aplicações de ácido jasmônico por 8 semanas.

Corroborando com o presente estudo, Dranski et al. (2015) aplicaram flexões caulinares diárias por sessenta dias em mudas de *Pinus taeda* e observaram acréscimo máximo de 16% na concentração de lignina da parte aérea no tratamento com 28 flexões. Ishihara et al. (2016) estudaram alterações morfológicas e bioquímicas em mudas de *Acacia koa* A. Gray flexionadas em quatro direções durante dois a seis meses e encontraram aumento significativo no diâmetro de coleto, conteúdo de antocianinas e aumento de 32,3% do teor de lignina da parte aérea das plantas.

O aumento na concentração de lignina de plantas estimuladas fisicamente (Tabela 1) pode ter relação com a ação de enzimas envolvidas na biossíntese desta macromolécula visto que a lignina é um composto fenólico derivado da rota do ácido chiquímico e formada basicamente pela polimerização de três diferentes

monolignóis: coniferil, cumaril e sinapil (TAIZ e ZEIGER, 2013). O processo de lignificação abrange a biossíntese daqueles monolignóis nos compartimentos citoplasmáticos e posterior polimerização na parede celular. A lignificação depende, assim, da ação de várias enzimas tanto na formação de seus precursores como na sua polimerização (MONTEIRO et al., 2004).

A formação dos precursores da lignina é dependente da ação da enzima fenilalanina amônia-liase, que é responsável pela catalisação da desaminação da fenilalanina a ácido trans-cinâmico (WETTEN et al., 1998; TAIZ e ZEIGER, 2013). A atividade daquela enzima pode ser influenciada por diversos fatores, incluindo níveis de hormônios, luminosidade, e diferentes tipos de estresses como ferimentos e infecção por patógenos (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Na etapa de polimerização da lignina há a ação da peroxidase, que atua na parede celular (MONTEIRO et al., 2004). A enzima peroxidase cataliza a oxidação e polimerização de hidroxilas de grupos fenólicos, dando origem à lignina (PASCHOLATI e LEITE, 1995).

Ramos et al. (2012) inclinaram mudas de *Pinus radiata* D. Don e *Pinus pinaster* Ait. em 45° e detectaram aumento na atividade de transcrição de genes para biossíntese de fenilalanina amônia-liase em cerca de duas vezes em comparação à mudas não inclinadas. *Bryonia dioica* Jacq. apresentou aumento nas atividades da fenilalanina amônia-liase e peroxidase e no conteúdo de lignina em resposta ao atrito nos entrenós (JAEGHER et al., 1985).

Assim, o aumento na concentração de lignina dos tecidos aéreos em mudas de *Cordia trichotoma* e *Tabebuia roseo-alba* estimuladas mecanicamente no presente trabalho corrobora com resultados reportados na literatura, que indicam incrementos dos teores de lignina em plantas perturbadas mecanicamente.

A aplicação de metil jasmonato por 8 semanas resultou em aumento significativo do teor de lignina nos tecidos caulinares em mudas de *Cordia trichotoma* em relação aos tratamentos controle e aplicações de metil jasmonato por 4 semanas (Tabela 1). Não houve diferença significativa no teor de lignina de mudas de *Cordia trichotoma* submetidas a 8 aplicações de metil jasmonato e flexões caulinares (Tabela 1).

Heberle (2016) aspergiu diferentes concentrações de ácido jasmônico em mudas de *Handroanthus impetiginosus* ((Mart ex. DC.) Mattos) e obteve aumento de 23,65 % no teor de lignina dos tecidos aéreos com as concentrações de 1 e 1,5 µmol

L<sup>-1</sup> em relação à mudas não aspergidas. Oliveira et al. (2009) realizaram sete aplicações de ácido jasmônico em mudas de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake em intervalos de dez dias e obtiveram aumento no teor de lignina de 41,56 % com a concentração de 1 µmol L<sup>-1</sup>. Os autores creditaram o aumento na concentração de lignina a uma possível ativação da via dos fenilpropanóides.

Os jasmonatos estimulam a produção de compostos de defesa das plantas e ativam genes de expressão para enzimas como peroxidases, polifenoloxidasas, (THALLER, 1999) e fenilalanina amônia liase (SEMBDNER e PARTHIER, 1993; SÁNCHEZ, 2008) sendo que a aplicação exógena daqueles reguladores pode estimular alterações no metabolismo das plantas. Andrade et al. (2013) pulverizaram 0,1 mmol L<sup>-1</sup> de ácido jasmônico em folhas de *Solanum lycopersicum* L. e observaram aumento da atividade de peroxidase em relação a plantas do tratamento controle, pulverizadas com água destilada.

Dessa forma, os resultados indicam a possibilidade de utilização do regulador vegetal na fase de rustificação de mudas como promotor de lignificação dos tecidos aéreos em *Cordia trichotoma*, por ser mais facilmente aplicável nos viveiros em relação ao estímulo mecânico.

Já em *Tabebuia roseo-alba*, o único tratamento que resultou em aumento no teor de lignina foi a aplicação de flexões caulinares por 8 semanas. É possível inferir que a dose utilizada de ácido jasmônico (1 µmol L<sup>-1</sup>) tenha sido insuficiente para causar acúmulo de lignina dos tecidos aéreos em mudas daquela espécie.

Apesar do acúmulo de lignina encontrado na parte aérea, não foram observadas diferenças significativas no teor de lignina dos tecidos radiculares em mudas de *Cordia trichotoma* (média de 10,7%) e *Tabebuia roseo-alba* (média de 12%) rustificadas pelos diferentes métodos e não rustificadas. Os resultados divergem dos encontrados por Dranski et al. (2015) que reportaram alterações na lignificação dos tecidos radiculares de *P. taeda* rustificadas por flexões caulinares. Aqueles autores constataram incrementos de 32% no teor de lignina de raízes em mudas flexionadas 19 vezes ao dia em relação ao tratamento controle.

Contudo, os resultados do presente ensaio corroboram com os de Heberle (2016), que encontrou aumento no teor de lignina dos tecidos caulinares, porém não observou diferença nos tecidos radiculares de *Patagonula americana* L. em função da aplicação de ácido jasmônico. A autora argumentou que as concentrações de

ácido jasmônico utilizadas (0,5; 1 e 1,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) podem ter sido baixas para estimular a lignificação de raízes daquela espécie.

Apesar das diferenças na concentração de lignina observadas na fase de viveiro, após as mudas permanecerem no campo por 450 e 360 dias, *Cordia trichotoma* e *Tabebuia roseo-alba*, respectivamente, não mais apresentaram diferenças na concentração de lignina da parte aérea entre os diferentes tratamentos. As médias de concentração de lignina encontradas no campo foram de 12,7% em *Cordia trichotoma* e 23,3% em *Tabebuia roseo-alba*.

Dessa forma, a interpretação dos resultados indicou que a aplicação de estímulos químicos ou mecânicos resultou em modificações fenotípicas não perduraram até o primeiro ano de estabelecimento a campo para as duas espécies. Adicionalmente, sugerem que as aplicações de jasmonatos e flexões caulinares em mudas podem ser exitosas na obtenção de mudas mais lignificadas no início do estabelecimento a campo. Contudo, aqueles métodos rustificativos não serão exitosos em obter indivíduos arbóreos adultos com maior concentração de lignina.

Os resultados referentes à perda de eletrólitos e crescimento de raízes em *Cordia trichotoma* e *Tabebuia roseo-alba* estão apresentados na tabela 2. Não houve diferença entre tratamentos no potencial de crescimento de raízes para a espécie *Tabebuia roseo-alba* (3,74 mg por muda).

TABELA 2 - Perda de eletrólitos (PER) e potencial de crescimento de raízes (PRR) em mudas de *Cordia trichotoma* e *Tabebuia roseo-alba* rustificadas com flexões caulinares e aplicações de jasmonatos.

TABLE 2 - Root electrolyte leakage (PER) and root regeneration potential (PER) in *Cordia trichotoma* and *Tabebuia roseo-alba* seedlings rustified with stem swying and jasmonates applications.

<i>C. trichotoma</i>	PER	PRR	<i>T. roseo-lba</i>	PER
	%	mg/muda		%
TEST	57,20 a	6,61 b	TEST	28,12 a
TIG4	31,70 b	48,37 a	TIG4	20,57 b
TIG8	28,70 b	31,18 a	TIG8	20,48 b
MJ4	43,10 ab	64,19 a	JA4	21,19 b
MJ8	34,90 b	66,04 a	JA8	18,92 b
CV(%)	24,4	22,6	CV(%)	18,78

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

TEST = Testemunha; TIG4 = Flexões caulinares por quatro semanas; TIG 8 = Flexões caulinares por oito semanas; MJA = aplicações de metil jasmonato por quatro semanas; MJ8 = Aplicações de metil jasmonato por oito semanas; JA4 = aplicações de ácido jasmônico por quatro semanas; JA8 = aplicações de ácido jasmônico por 8 semanas.

Após 450 dias a campo, mudas de *C. trichotoma* apresentaram incrementos de 120,7 cm em altura e 17,37 mm em diâmetro do caule ao nível do solo. Mudas de *T. roseo-alba*, após 360 dias no campo, apresentaram incrementos de 97,5 cm em altura e 16,7 mm em diâmetro do caule. Naquelas datas, mudas de ambas as espécies não externaram diferenças nos incrementos em altura e diâmetro do colo ao nível do solo entre os tratamentos, bem como não houve diferença significativa na sobrevivência com valores de 92,5% e 95% para *C. trichotoma* e *T. roseo-alba*, respectivamente.

Durante a avaliação de desempenho a campo, os valores da temperatura do ar e precipitação (Figuras 1 e 2) indicaram a inexistência de anomalia no clima. Del Campo et al. (2009) constataram que atributos de qualidade só se correlacionaram com a sobrevivência em mudas de *Quercus ilex* subsp. *Ballota* (Desf.) Samp. quando plantadas em ano com ocorrência de severa restrição hídrica, quando a sobrevivência se correlacionou negativamente com a altura das mudas. No ano seguinte, quando as condições ambientais foram favoráveis, os autores não detectaram correlação entre a sobrevivência e atributos de qualidade, indicando que a expressão da qualidade da muda pode ser condicionada a determinadas situações ambientais adversas.

Os efeitos diretos e indiretos das concentrações de lignina de caules e raízes e da perda de eletrólitos e potencial de crescimento de raízes sobre o desempenho das mudas no campo estão apresentados nas tabelas 3 e 4. Após a análise de multicolinearidade, para ambas as espécies o número de condição foi abaixo de 100 e o FIV abaixo de 10, indicando colinearidade e multicolinearidade fraca (CRUZ, 2006). Portanto, as variáveis em estudo não são altamente correlacionadas.

No caso de *Cordia trichotoma*, apesar da concentração de lignina do tecido caulinar apresentar fraca correlação total com a sobrevivência das mudas a campo, percebe-se que entre todas as características correlacionadas na tabela 3, a que apresentou maior efeito direto positivo (>1) sobre a sobrevivência foi o teor de lignina do caule. O mesmo comportamento, com efeito direto positivo da concentração de lignina dos tecidos caulinares (>1) foi observado nos incrementos em altura e diâmetro do colo ao nível do solo após permanência das mudas por 450 dias a campo (Tabela 3).

Dranski et al. (2015) encontraram forte correlação positiva entre o efeito direto da concentração de lignina dos tecidos caulinares em mudas de *P. taeda* estimuladas mecanicamente com o volume do caule ( $R=0,88$ ) e com a altura das mudas ( $R=0,93$ ) aos 90 dias após o plantio a campo, corroborando com o presente estudo.

TABELA 3 - Coeficiente de correlação e coeficientes de trilha em mudas de *C. trichotoma*.

TABLE 3 - Correlation coefficient and path coefficients of *C. trichotoma* seedlings.

Variáveis	Vias de associação	Coeficientes de trilha					
		Efeito direto			Efeito indireto		
		SOB	IH	ID	SOB	IH	ID
LC	Efeito direto	2,11	2,08	1,08			
	Indireto via LR				0,02	0,05	0,08
	Indireto via PER				-1,10	-1,21	-0,43
	Indireto via PRR				-0,73	-0,40	-0,01
	Total (coeficiente de correlação)				0,30	0,53	0,72
LR	Efeito direto	0,14	0,45	0,64			
	Indireto via LC				0,25	0,25	0,13
	Indireto via PER				-0,03	-0,03	-0,01
	Indireto via PRR				0,02	0,01	0,01
	Total (coeficiente de correlação)				0,38	0,68	0,76
PER	Efeito direto	1,18	1,30	0,46			
	Indireto via LC				-1,96	-1,93	-1,00
	Indireto via LR				-0,01	-0,01	-0,01
	Indireto via PRR				0,60	0,32	0,01
	Total (coeficiente de correlação)				-0,18	-0,31	-0,55
PRR	Efeito direto	-1,16	-0,63	-0,01			
	Indireto via LC				1,32	1,30	0,67
	Indireto via LR				-0,01	-0,01	-0,01
	Indireto via PER				-0,61	-0,68	-0,24
	Total (coeficiente de correlação)				-0,46	-0,01	0,41
Coeficiente de determinação				0,99	0,99	0,99	
Número da condição (NC)				4,1	69,6	2,80	
Fator de inflação da variância (FIV)				<1,0	2,0	<1,0	

Em que: (LC) lignina nos tecidos caulinares; (LR) lignina nos tecidos radiculares; (PER) perda de eletrólitos de raízes; (PRR) potencial de crescimento de raízes; (SOB) sobrevivência; (IH) incremento na altura; (ID) incremento no diâmetro do caule.

A lignina exerce diversas funções de extrema importância nas plantas terrestres (TAIZ e ZEIGER, 2013). Em condições de clima tropical e subtropical, em que a disponibilidade de água é sazonal e frequentemente restrita, a tolerância ao embolismo se apresenta de extrema importância. O embolismo ou cavitação ocorre

em condição severa de restrição hídrica, que conseqüentemente culmina em aumento da tensão no xilema e a formação de bolhas de ar no mesmo. Tal fato interfere negativamente no transporte de água, diminuindo as taxas de crescimento e sobrevivência de plantas (MARTINÉZ-VILAVOLTA e PIÑOL, 2003; LENS et al., 2013).

A lignina é um componente fundamental do tecido no transporte da água e parece se relacionar com a resistência ao estresse hídrico em vegetais lenhosos (MALAVASI et al., 2016). Sua deposição na parede celular confere maior fluidez na condução de água e sais, principalmente por reduzir a permeabilidade e porosidade das células e aumentar sua rigidez. Dessa forma, propicia maior resistência das plantas ao embolismo, que é causa de mortalidade de mudas em condições de restrição hídrica severa (VOELKER et al., 2011; HERBETTE et al., 2015).

Além da resistência ao embolismo, a maior lignificação dos tecidos de indivíduos juvenis confere resistência à infecção de patógenos e ataque de pragas (PELTIER et al., 2009; TAIZ e ZEIGER, 2013), o que pode se relacionar com maior sobrevivência das mudas nos primeiros meses pós-plantio.

Os maiores coeficientes de trilha encontrados para os efeitos indiretos sobre a sobrevivência, o incremento em altura e o incremento em diâmetro para a espécie *Cordia trichotoma* (Tabela 3) foram os de perda de eletrólitos do tecido radicular via concentração de lignina do caule. A perda de eletrólitos de raízes, embora tenha exercido efeitos diretos positivos, teve influência indireta negativa. O teste da perda de eletrólitos em raízes tem sido citado como um atributo de qualidade em mudas. Quanto menor aquele valor, maior a integridade das membranas do tecido radicular (RITCHIE et al., 2010). No presente estudo, mudas de *C. trichotoma* estimuladas química ou fisicamente apresentaram menor extravasamento de eletrólitos do tecido radicular em comparação à testemunha.

Percebe-se, portanto, que no caso de *Cordia trichotoma*, o teor de lignina exerceu influência na sobrevivência e nos incrementos da espécie a campo, tanto de forma direta, quanto de forma indireta, através da perda de eletrólitos do tecido radicular. Para aquela espécie, a utilização de estímulos físicos e químicos ao final do ciclo de produção de mudas exerce efeitos positivos no estabelecimento a campo.

Para a espécie *Tabebuia roseo-alba*, não foram encontrados efeitos da concentração de lignina do caule sobre a sobrevivência das mudas a campo (Tabela

4). A influência dos incrementos da concentração de lignina na sobrevivência e/ou desempenho das mudas ainda é pouco estudada. Muitos dos trabalhos que correlacionaram teor de lignina e desempenho a campo, estiveram pautados na comparação entre tratamentos controle e mudas com menor concentração daquela molécula devido ao melhoramento genético. Ou seja, naqueles casos, houve a redução na concentração de lignina que a planta adquiriu evolutivamente, com conseqüente redução no seu desempenho ou na sua sobrevivência (COLEMAN et al., 2008; VOELKER et al., 2011).

TABELA 4 - Coeficiente de correlação e coeficientes de trilha para mudas de *Tabebuia roseo-alba*.

TABLE 4 - Correlation coefficient and path coefficients to *Tabebuia roseo-alba* seedlings.

Variáveis	Vias de associação	Coeficientes de trilha					
		Efeito direto			Efeito indireto		
		SOB	IH	ID	SOB	IH	ID
LC	Efeito direto	-0,18	-1,30	-0,60			
	Indireto via LR				-0,37	-0,10	0,07
	Indireto via PER				0,18	1,23	0,87
	Indireto via PRR				0,63	0,65	-0,17
	Total (coeficiente de correlação)				0,27	0,49	0,17
LR	Efeito direto	-1,36	-0,36	0,26			
	Indireto via LC				-0,05	-0,35	-0,16
	Indireto via PER				-0,11	-0,72	-0,51
	Indireto via PRR				1,42	1,46	-0,38
	Total (coeficiente de correlação)				-0,10	0,03	-0,78
PER	Efeito direto	-0,25	-1,69	-1,19			
	Indireto via LC				0,13	0,94	0,43
	Indireto via LR				-0,57	-0,15	0,11
	Indireto via PRR				0,49	0,51	-0,13
	Total (coeficiente de correlação)				-0,20	-0,39	-0,78
PRR	Efeito direto	-1,74	-1,79	0,46			
	Indireto via LC				0,07	0,47	0,22
	Indireto via LR				1,10	0,29	-0,22
	Indireto via PER				0,07	0,48	0,34
	Total (coeficiente de correlação)				-0,50	-0,55	0,81
Coeficiente de determinação					0,99	0,99	0,99
Número da condição (NC)					32,6	92,511,6	
Fator de inflação da variância (FIV)					2,0	4,0	2,0

Em que: (LC) lignina nos tecidos caulinares; (LR) lignina nos tecidos radiculares; (PER) perda de eletrólitos de raízes; (PRR) potencial de crescimento de raízes; (SOB) sobrevivência; (IH) incremento na altura; (ID) incremento no diâmetro do caule.



É possível observar, que de forma direta, a característica que mais influenciou a sobrevivência e o incremento em altura foi o potencial de crescimento de raízes (PRR). O potencial de crescimento de raízes é um teste de desempenho considerado eficiente em prever a capacidade da muda de sobreviver e se estabelecer após o plantio (BARROSO et al., 2000; NOVAES et al., 2002; NOVAES et al., 2014).

Novaes et al. (2002) determinaram o potencial de crescimento de raízes de mudas de *Pinus taeda* L. produzidas em diferentes recipientes e correlacionaram-o com o desenvolvimento das mudas a campo. Os autores calcularam correlação positiva entre o número de novas raízes e o diâmetro e a altura das mudas após 24 meses do plantio e concluíram que o potencial de crescimento de raízes é eficaz em prever o desempenho de mudas de *P. taeda* a campo.

Contudo, no presente estudo o potencial de crescimento de raízes exerceu efeitos diretos negativos na sobrevivência e no incremento em altura em mudas de *T. roseo-alba* (Tabela 4), o que não corrobora com os resultados reportados frequentemente pela literatura.

Mudas de *T.roseo-alba* estimuladas por jasmonatos ou flexões tiveram o extravasamento de eletrólitos do tecido radicular reduzido no presente trabalho. O teste da perda de eletrólitos responde aos estímulos físicos e/ou químicos durante o processo de produção no viveiro. O valor do teste foi reduzido em mudas de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze com aplicação exógena de etileno (ORO et al., 2012) e em mudas de *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch com aplicações de flexões caulinares por 30 dias, corroborando com o presente estudo.

Conforme a Tabela 4 percebe-se que a perda de eletrólitos do tecido radicular foi a principal característica que exerceu efeito direto no incremento em diâmetro do colo das mudas. Correlação negativa entre perda de eletrólitos de raízes e desempenho de mudas foi encontrada por McKay (1992) em mudas de *Picea stichencis* (Bong.) Car.

Os resultados sugerem a dificuldade de se relacionar o desempenho pós plantio com atributos de qualidade de mudas de forma isolada, visto que a qualidade das plantas pode se expressar através da soma de diversas características. Além disso, cada área agrícola resulta em interações biológicas distintas, visto as variações agroclimáticas e ecológicas ocorridas em cada local e em determinado momento.

Adicionalmente, os resultados indicam que as técnicas de rustificação utilizadas no presente trabalho não resultaram em melhorias no desempenho a campo para a espécie *T. roseo-alba*, não sendo justificável a sua utilização durante o final do ciclo de produção de mudas daquela espécie.

#### 4.6 CONCLUSÕES

A aplicação de flexões caulinares por oito semanas no viveiro promoveu aumento na concentração de lignina da parte aérea em mudas de *C. trichotoma* e *T. roseo-alba*. A aplicação de jasmonatos foi eficiente em aumentar o teor de lignina dos tecidos aéreos apenas para a espécie *C. trichotoma*. Os tratamentos testados não induziram maior lignificação no sistema radicular de *C. trichotoma* ou *T. roseo-alba*.

No campo, após 450 e 360 dias do plantio, mudas de *C. trichotoma* e *T. roseo-alba* respectivamente, não externaram diferenças na concentração de lignina do caule entre os tratamentos testados.

A análise de trilha indicou que a concentração de lignina dos tecidos caulinares exerceu efeito direto positivo nos incrementos em altura, diâmetro de colo e sobrevivência em mudas *C. trichotoma*.

O aumento na concentração de lignina do caule não resultou em melhorias no desempenho a campo para a espécie *T. roseo-alba*, não sendo justificável a aplicação dos estímulos físico ou químico durante o final do ciclo de produção de mudas daquela espécie.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, C. C. L.; RESENDE, R. S.; RODRIGUES, F. A.; SILVEIRA, P. R.; RIOS, J. A.; OLIVEIRA, J. R.; MARIANO, L. R. R. Indutores de resistência no controle da pinta bacteriana do tomateiro e na atividade de enzimas de defesa. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n.1, p.28-34, 2013.

BARROSO, G. D.; CARNEIRO, A. G. J.; LELES, S. S. P.; MORGADO, F. I. Regeneração de raízes de mudas de eucalipto em recipientes e substratos. **Scientia Agrícola**, v.57, n.2, p.229-237, 2000.

BELLOTTO, A., GANDOLFI, S., RODRIGUES, R. Restauração fundamentada no plantio de árvores, sem critérios ecológicos para escolha e combinação das espécies. In: RODRIGUES, R. R. et al. (Eds.). **Pacto para a restauração da mata atlântica**. São Paulo: LERF/ESALQ: Instituto Bioatlântica, 2009.

BRACK, P.; GRINGS, M. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**. Brasília, MMA, 2011. 936p.

CARNEIRO, J. G. de A. **Produção e controle de qualidade de mudas florestais**. Curitiba: UFPR/FUPEF, 1995. 451 p.

COLEMAN, H. D.; SAMUELS, A. L.; GUU, R. D.; MANSFIELD, S. D. Perturbed lignification impacts tree growth in hybrid poplar – a function of sink strength, vascular integrity and photosynthetic assimilation. **Plant Physiology**, v.148, p.1229–1237, 2008.

COLLI, S In: KERBAUY, G.B (ed). **Fisiologia Vegetal**. 2. ed.Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012, p 337-338.

CRUZ, C. D. **Programa genes: aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: UFV, 2001. 648 p.

CRUZ, C. D. **Programa genes: estatística experimental e matrizes**. Viçosa: UFV, 2006. 285 p.

DEL CAMPO, A. D.; NAVARRO, R. M.; CEACERO, C. J. Seedling quality and field performance of commercial stocklots of containerized holm oak (*Quercus ilex*) in Mediterranean Spain: an approach for establishing a quality standard. **New Forests**, v.39, p.19-37, 2009.

DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M. Relationship between lignin content and quality of *Pinus taeda* seedlings. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 39, n.5, p.905-913, 2015.

DUBOC, I. **Cultivo de espécies nativas do bioma cerrado**. Planaltina. Embrapa Cerrados, 2004. 10 p. (Embrapa Cerrados. Circular Técnica 110).

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília, 2006. 306p.

GARLIPP, R.; FOELKEL, C. **O papel das florestas para atendimento das demandas futuras da sociedade.** Sociedade Brasileira de Silvicultura. In: XIII Congresso florestal mundial/FAO. Argentina, 2009.

HEBERLE, K. **Aplicação de ácido jasmônico na rustificação em mudas de ipê roxo e guajuvira.** 2016. 54p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2016.

HERBETTE, S.; BOUCHET, B.; BRUNEL, N.; BONNIN, E.; COCHARD, H.; GUILLON, F. Immunolabelling of intervessel pits for polysaccharides and lignin helps in understanding their hydraulic properties in *Populus tremula x alba*. **Annals of Botany**, v.115, p.187–199, 2015

HOLANDA, A. C.; PESSOA, M. M. L.; MELO, C. L. S. M.; SANTOS, M. S.; MARANGON, L. C.; FELICIANO, A. L. P. Estrutura de espécies arbóreas sob efeito de borda em um fragmento de floresta estacional semidecidual em Pernambuco. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 34, n. 1, p. 103-114, 2010.

IAPAR. INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. **Cartas climáticas do Paraná.** Londrina: IAPAR, 2000. CD-ROM.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Árvores do Brasil Central: espécies da região geoeconômica de Brasília**, v.1. Rio de Janeiro: IBGE, Diretoria de Geociências, 2002. 417p.

ISHIHARA, K. L.; LEE, K. W. E.; BORTHAKUR, D. Thigmomorphogenesis: morphological, biochemical changes, and transcriptional level changes in response to mechanical stress in *Acacia koa* A. Gray. **Canadian Journal of Forest Research**, v.45, 2016.

JAFFE, M. J. Thigmomorphogenesis: the response of plant growth and development to mechanical stimulation with special reference to *Bryonia dioica*. **Planta**, v.114, n.2, p.143-156, 1973.

JAEGHER, G.; BOYER, N.; GASPAR, T. Thigmomorphogenesis in *Bryonia dioica*: Changes in soluble and wall peroxidases, phenylalanine ammonia-lyase activity, cellulose, lignin content and monomeric constituents. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.3, n.2, p.133-148, 1985.

KERN, A. K.; WERS, W. F.; TELEWSKI, W. F.; KOEHLER, L. Mechanical perturbation affects conductivity, mechanical properties and above ground biomass of hybrid poplars. **Tree Physiology**, v.25, n.10, p.1243-1251, 2005.

LENS, F.; TIXIER, A.; COCHARD, H.; SPERRY, J. JANSEN, S.; HERBETTE, S. Embolism resistance as a key mechanism to understand adaptive plant strategies. **Plant Biology**, v.16, p.287-292, 2013.

LIMA, P. R.; HORBACH, M. A.; DRANSKI, J. A. L.; ECCO, M.; MALAVASI, M.M.; MALAVASI, U. C. Avaliação morfofisiológica em mudas de *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos durante a rustificação. **Floresta e Ambiente**, v. 21, n.3, p.16-326, 2014.

LONGHI, S. J.; NASCIMENTO, A. R. T.; FLEIG, F. D.; DELLA-FLORA, J. B.; FREITAS, R. A.; CHARÃO, L. W. Composição florística e estrutura da comunidade arbórea de um fragmento florestal no município de Santa Maria – Brasil. **Ciência Florestal**, v.9, n.1, p.115-133, 1999.

MALAVASI, U. C.; DAVIS, A. S.; MALAVASI, M. M. Lignin in woody plants under water stress: a review. **Floresta e Ambiente**, v. 23, n. 4, p. 589-597, 2016.

MARTÍNEZ-VILALTA, J.; PIÑOL, J. Limitaciones hidráulicas al aporte de agua a las hojas y resistencia a la sequía. **Ecosistemas**, v.7, n.1, p.1-7, 2003.

MCKAY, H. M. Electrolyte leakage from fine roots of conifer seedlings: a rapid index of plant vitality following cold storage. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 22, p. 1371-1377, 1992.

MONTEIRO, M. B. O.; PEREIRA, R. P. W.; ABREU, H. S. Bioquímica da lignificação de células xilêmicas. **Floresta e Ambiente**, v.11, n.2, p.48-57, 2004.

NOVAES, A. B.; CARNEIRO, J. G. A.; BARROSO, D. G.; LELES, P. S. S. Avaliação do potencial de regeneração de raízes de mudas de *Pinus taeda* L., produzidas em diferentes tipos de recipientes, e o seu desempenho no campo. **Árvore**, v. 26, n. 6, p. 675 - 681, 2002.

NOVAES, B. A.; SILVA, F. H.; SOUZA, O. T. G.; AZEVEDO, B. G. Qualidade de mudas de nim indiano produzidas em diferentes recipientes e seu desempenho no campo. **Floresta**, v.44, n.1, p.101-110, 2014.

OLIVEIRA, E. B.; MARANGON, L. C.; FELICIANO, A. L. P.; FERREIRA, R. L. C.; RÊGO, P. L. Estrutura fitossociológica de um fragmento de mata ciliar, Rio Capibaribe Mirim, Aliança, Pernambuco. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.4, n.2, p.167-172, 2009a.

OLIVEIRA, M. B.; ABREU, S. H.; PEREIRA, W. P. R. Teor de lignina em plantas de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake tratadas com fitorreguladores. **Revista Silva Lusitana**, Lisboa, v. 17, n.1, p.51-57, 2009b.

OLIVEIRA, M. C. de. **Manual de viveiro e produção de mudas**: espécies arbóreas nativas do Cerrado. Brasília: Rede Sementes do Cerrado, 2016.

ORO, P.; VOLKWEIS, R. C.; NEIVERTH W.; DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M. Aplicação de regulador vegetal na aclimação de mudas de *Cariniana estrellensi*. **Cultivando o Saber**, Cascavel, v.5, n.4, p.103-112, 2012.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN Filho, A.; KIMATI H.; AMORIM, L. (Eds.) **Manual de Fitopatologia**:

princípios e conceitos. 3. ed. São Paulo, SP. Agronômica Ceres. vol. 1, 1995 p. 417-453.

PELTIER, A. J., HATFIELD, R. D., GRAU, C. R. Soybean stem lignin concentration relates to resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, v.93, n.2, p.149-154, 2009.

RAMOS,P.; PROVOST, Le. G.; GANTZ, C.; PLOMION,C.; HERRERA, R. Transcriptional analysis of differentially expressed genes in response to stem inclination in young seedlings of pine. **Plant Biology**, v.14, n.6, p.923-933, 2012.

RITCHIE, G. A.; LANDIS, T. D.; DUMROESE, R. K.; HAASE, D. L. Assessing Plant Quality. In: LANDIS, T. D.; DUMROESE, R. K.; HAASE, D. L. (Eds.). **The container tree nursery manual: seedling processing, storage, and out planting**. v.7. Washington: Department of Agriculture Forest Service, 2010, p.19-81.

SÁNCHEZ, F.E. Jasmonatos: compuestos de alto valor para la agricultura. Parte I. Actividad biológica y ruta biosintética del ácido jasmónico em plantas. **ICIDCA**, n.3, p.51-59, 2008.

SEMBDNER,G.; PARTHIER,B. The biochemistry and the physiological and molecular actions of jasmonates. **Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Bioi.** v.44, p.569-89, 1993.

TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013, 918p.

THALER, N. S.; FIDANTSEF, A. L.; DUFFEY, S. E.; BOSTOCK, R. M. Trade-offs in plant defense against pathogens and herbivores: a field demonstration of chemical elicitors of induced resistance. **Journal of Chemical Ecology**. Berlin, n.25, p. 1597-1609, 1999.

URBANETZ, C., LEHN, C. R., SALIS, S. M., BUENO, M. L., ALVES, F.M. Composição e distribuição de espécies arbóreas em gradiente altitudinal, morraria do Urucum, Brasil. **Oecologia Australis**, v.16, n.4, p.859-877, 2012.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

VIEIRA, E. L; SOUZA, G. L; SANTOS, A. R; SILVA, J. S. **Manual de fisiologia vegetal**. São Luis: EDUFMA, 2010, 230p.

VOELKER, S.; LACHENBRUCH, B.; MEINZER, C. F.; KITIN, P.; STRAUSS, H. S. Transgenic poplars with reduced lignin show impaired xylem conductivity, growth efficiency and survival. **Plant, Cell and Environment**, v.34, p.655-668, 2011.

VOLKWEIS, R. C.; DRANSKI, J. A. L.; ORO, P.; MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M.M. Efeito da tigmomorfogênese na morfometria de mudas de *Maytenus ilicifolia* (Schrad.) Planch. **Ciência Florestal**, v.24, n.2, p.339-342, 2014.

WHETTEN, W. R.; MACKAY, J. J.; SEDEROFF, R. R. Recent advances in understanding lignin biosynthesis. **Annual Review of Plant Biology**, v.49, p.585-609, 1998.

WILNER, J. Relative and absolute electrolyte conductance tests for frost hardiness of apple varieties. **Canadian Journal of Plant Science**, v.40, p.630-637, 1960.



## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A aplicação de metil jasmonato e de flexões caulinares durante a rustificação de mudas de *Cordia trichotoma* resultou em mudas mais robustas, com melhor qualidade morfológica e fisiológica e melhor desempenho a campo até os 90 dias após o plantio. Os métodos testados por 8 semanas também resultaram em maior lignificação dos tecidos caulinares.

Para esta espécie, tanto flexões caulinares como aplicações de jasmonato foram eficientes em promover a rustificação e melhorar o desempenho inicial a campo, indicando que é possível utilizar qualquer um dos métodos testados durante a rustificação das mudas. Da mesma forma, a análise de trilha permitiu encontrar resultados positivos em relação aos efeitos da lignificação na sobrevivência, incremento em altura e diâmetro do coleto durante os 450 dias em que as mudas permaneceram a campo.

Contudo, apesar dos resultados positivos externados pelas mudas de *Cordia trichotoma*, os tratamentos rustificativos testados em *Tabebuia roseo-alba* não foram eficientes em melhorar a qualidade das mudas e seu desempenho a campo.

É possível levantar algumas hipóteses em relação às diferenças encontradas entre as duas espécies. A primeira delas é que os estímulos foram aplicados em estações do ano distintas. A espécie *Cordia trichotoma* foi rustificada durante a primavera, momento em que a muda estava em pleno desenvolvimento. No caso de *Tabebuia roseo-alba*, os estímulos ocorreram durante o outono, momento em que as mudas provavelmente estavam diminuindo a taxa de crescimento, o que pode ter limitado possíveis modulações morfológicas.

A segunda hipótese levantada trata da rusticidade da espécie *Tabebuia roseo-alba*. São vários os trabalhos que indicaram que a espécie apresentou elevadas taxas de sobrevivência e desempenho mesmo quando foram plantadas em condições adversas e não receberam tratamentos culturais como roçada e fertilização. Ademais, ficou claro pelos dados climáticos e de solo apresentados no texto, que a espécie não enfrentou situações edáficas e climáticas que pudessem restringir o seu desempenho. Adicionalmente, durante todo o período de condução do experimento a campo, a área experimental permaneceu limpa, com constantes roçadas e coroamento das mudas, que não sofreram competição interespecífica.

Portanto, é possível inferir que mesmo que rustificadas, as mudas não encontraram condições adversas que pudessem estimular a evidência de diferença na qualidade.

Diante do exposto, fica claro que os métodos testados são eficientes na rustificação de *Cordia trichotoma*, e que a utilização de jasmonatos pode substituir o estímulo físico ao final do ciclo de produção de mudas, por ser um método mais facilmente operacionalizado. Fica claro também, que dentro dos limites testados no presente trabalho, não há justificativa para a utilização dos métodos físico ou químico na rustificação de mudas de *Tabebuia roseo-alba*.

Como sugestão para futuras pesquisas, expõe-se a necessidade de testar o desempenho das mudas em diferentes condições de plantio, em regiões com diferentes características agroclimáticas e/ou submeter as mudas a diferentes tipos e intensidades de estresses em ambiente protegido e controlado.