

ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS EM *Eucalyptus grandis* SOB APLICAÇÃO DE BIORREGULADORES NO PERÍODO JUVENIL (NOTA CIENTÍFICA)¹

MORPHOLOGICAL MODIFICATIONS IN *Eucalyptus grandis* WITH APPLICATION OF BIOREGULATORS AT JUVENILE STAGE (SCIENTIFIC NOTE)

Cristiano Bueno de MORAES^{2,7}; Glaucia UESUGI³;
Léo ZIMBACK⁴; Iraê Amaral GUERRINI⁵; Edson Seizo MORI⁶

RESUMO – O presente estudo teve como objetivo a aplicação dos biorreguladores vegetais paclobutrazol, ácido giberélico e ethefon em mudas de *Eucalyptus grandis*, com o intuito de acompanhar as modificações promovidas pelos hormônios sintéticos durante a fase juvenil. Foram efetuadas avaliações morfológicas como altura (cm) e diâmetro do colo (mm) e medições indiretas do índice de clorofila. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com três repetições e quatro plantas por parcela. A aplicação de paclobutrazol (PBZ) promoveu alterações morfológicas nas folhas dos indivíduos como: redução no tamanho, modificação da cor e limbo coriáceo. Foram também verificadas redução no comprimento dos internódios, quebra de dormência de gema e desenvolvimento de ramos laterais, redução do porte das plantas (68%) e aumento da quantidade de clorofila (29%). Já o ácido giberélico (GA₃) demonstrou ser substância importante relacionada ao desenvolvimento vegetativo, estimulando o crescimento em altura das plantas (41%), mostrando-se inadequado em promover alterações que indicassem o amadurecimento dos tecidos vegetais. O ethefon não promoveu nenhuma alteração significativa na espécie *Eucalyptus grandis*.

Palavras-chave: melhoramento florestal; fisiologia; reguladores vegetais.

ABSTRACT – This aim of this study was the application of plant bioregulators: paclobutrazol, gibberelic acid, and ethefon in *Eucalyptus grandis* seedlings. Morphologic evaluations were done, as plant height (cm) and stem diameter (mm) and indirect measurement of chlorophyll index. The statistical design was in randomized blocks, through split-plot schedule, with three replications. The paclobutrazol (PBZ) have promoted leaf morphological variations as: accentuation of central nervures, reduction in size, modification in color and coriaceous leaves. We also verified reduction in internode lengths; overcoming seed dormancy, and development of lateral branches, reduction of plant height (68%), increasing of chlorophyll amount (29%). Gibberelic acid (GA₃) have shown to be important chemical related to vegetative development, stimulating plant height growth (41%), showing an inappropriate chemical to promote the maturation in plant tissue. Ethephon did not cause any significant change in *Eucalyptus grandis*.

Keywords: forest improvement; physiology; growth regulation.

¹Recebido para análise em 21.09.12. Aceito para publicação em 01.02.13.

²Aluno de Pós-Graduação em Ciências Florestais – Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu – FCA/UNESP – Fazenda Experimental Lageado, Rua José Barbosa de Barros, 1780, 18610-307 Botucatu, SP, Brasil.

³Aluna de Mestrado em Ciências Florestais – Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu – FCA/UNESP – Fazenda Experimental Lageado, Rua José Barbosa de Barros, 1780, 18610-307 Botucatu, SP, Brasil.

⁴Instituto Florestal, Rua do Horto, 931, 02377-000 São Paulo, SP, Brasil.

⁵Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu – FCA/UNESP, Departamento de Solos, Fazenda Experimental Lageado, Rua José Barbosa de Barros, 1780, 18610-307 Botucatu, SP, Brasil.

⁶Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu – FCA/UNESP, Departamento de Melhoramento Vegetal, Fazenda Experimental Lageado, Rua José Barbosa de Barros, 1780, 18610-307 Botucatu, SP, Brasil.

⁷Autor para correspondência: Cristiano Bueno de Moraes – cb_moraes2004@yahoo.com.br

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Eucalyptus* é muito importante para o setor florestal brasileiro. Hoje, sua produtividade de madeira atinge números que partem de 35 a 50 m³ha⁻¹ano⁻¹, dependendo da região (Moraes et al., 2012). Sua característica de rápido crescimento e boa adaptação às condições edafoclimáticas colaboram para a manutenção da ótima produção das florestas plantadas no país (Pires et al., 2011; Zimback et al., 2011).

Dentre as 900 espécies do gênero, uma daquelas que ocupa um lugar de destaque na silvicultura brasileira é o *Eucalyptus grandis*. Ela ocorre naturalmente na Austrália, ao norte do Estado de New South Wales, e ao sul e norte de Queensland, em área de altitude 300 a 900 m, com precipitação pluviométrica que varia de 1.000 a 1.700 mm (Fonseca et al., 2010).

Contudo, mesmo com o avanço das técnicas de melhoramento genético nas últimas décadas com a espécie *E. grandis*, muitas dificuldades ainda são encontradas nos programas de melhoramento, devido a fatores limitantes como o período de florescimento, a idade de ocorrência da primeira floração, a intensidade da floração, a irregularidade do florescimento, o pouco conhecimento dos efeitos dos hormônios vegetais nestes processos, entre outros (Moraes, 2007; Silva et al., 2012).

Para tentar esclarecer um pouco esses problemas, uma alternativa é o estudo com a utilização de hormônios sintéticos que atuam nos processos fisiológicos dos vegetais. Um produto muito utilizado na área florestal, é o inibidor de crescimento paclobutrazol. Ele possui em sua constituição [(2RS – 3RS) – 1 – (4 – clorofenil) – 4, 4, dimetil – 2 – (1H-1,2,4-triazol-1-il) pentan-3-ol], cuja fórmula empírica C₁₅H₂₀ClN₃O, é um composto químico, derivado do triazol, que atua sobre a planta inibindo o crescimento (Wiltshire et al., 1998), agindo também no desenvolvimento reprodutivo (Moncur et al., 1994; Meilan, 1997).

O paclobutrazol promove a inibição da biossíntese de giberelina (Taiz e Zeiger, 2004), provocando modificações morfológicas em determinadas espécies. No caso de angiospermas lenhosas, essa inibição está relacionada à parada do crescimento vegetativo e ao estímulo do desenvolvimento reprodutivo (Williams et al., 2003).

Outro biorregulador muito importante e conhecido é o ácido giberélico (GA₃). Estudos mostram a eficiência das giberelinas como indutoras de brotos vegetativos e no aumento do número de flores (Steffens et al., 1985). Já o ethephon atua liberando etileno no citoplasma das células vegetais. É utilizado principalmente para indução floral de espécies ornamentais. Quando pulverizado em mangueira é prontamente absorvido pelas folhas e translocado na planta. Ao atingir o citoplasma, o ethephon libera o etileno lentamente, permitindo o florescimento (Mendonça et al., 2003).

Desta forma, o objetivo deste estudo foi apresentar resultados preliminares da avaliação do efeito dos biorreguladores vegetais paclobutrazol (PBZ), ácido giberélico (GA₃) e ethephon em mudas de *E. grandis*, com o intuito de acompanhar as modificações promovidas pelos hormônios sintéticos durante a fase juvenil.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimento Lageado/Botucatu–SP, onde fica localizada a Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu/FCA–UNESP, que se encontra a aproximadamente 786 m de altitude e com as seguintes coordenadas geográficas: 22°51' latitude Sul e 48°26' longitude Oeste. O clima da região, de acordo com a classificação de Köppen, é definido como Cwa: clima temperado quente (mesotérmico) com chuvas no verão e seca no inverno, sendo a temperatura média do mês mais quente superior a 22 °C.

Foram utilizadas mudas de *E. grandis*, produzidas no viveiro do Departamento de Ciências Florestais. A semeadura foi realizada em tubetes de 55 cm³, e dois meses após sua realização, as mudas foram transplantadas para saquinhos plásticos de 5 litros. Depois de três meses, foram encaminhadas para a área de plantio e replantadas em recipientes de 20 litros contendo solo classificado como Latossolo Vermelho de Textura Média. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com três repetições e quatro plantas por parcela.

As amostras de solo foram coletadas e analisadas quimicamente, cujos resultados, para macro e micronutrientes foram: pH (CaCl₂): 4,2; M.O. (g dm⁻³): 10,0; P (mg dm⁻³): 1,0; H + Al (mmol_c dm⁻³): 37,0; K (mmol_c dm⁻³): 0,1; Ca (mmol_c dm⁻³): 6,0; Mg (mmol_c dm⁻³): 0,0; Al (mmol_c dm⁻³): 2,0; SB (mmol_c dm⁻³): 8,0; CTC (mmol_c dm⁻³): 45,0; V(%): 18,0; S (mmol_c dm⁻³): 6,0; B (mg dm⁻³): 0,12; Cu (mg dm⁻³): 0,2; Fe (mg dm⁻³): 31,0; Mn (mg dm⁻³): 0,2; e Zn (mg dm⁻³): 0,0.

Com base nas análises, o solo dos vasos recebeu calcário na dose de 2,0 t/ha (30,0 g vaso⁻¹). As doses de NPK utilizadas foram: 20 g de Sulfato de Amônio (4 g N g vaso⁻¹), 22,4 g de Superfosfato Triplo (9,18 g P₂O₅ g vaso⁻¹), 4,96 g de Cloreto de Potássio (2,98 g K₂O g vaso⁻¹), 1,76 g Ácido Bórico (0,3 g B g vaso⁻¹) e 2,25 g de Sulfato de Zinco (0,45 g Zn g vaso⁻¹), sendo que da recomendação de adubação acima, 10% foi aplicada na hora do plantio e o restante após três meses.

O produto paclobutrazol (PBZ) foi aplicado nos vasos, aos seis meses de idade, utilizando o produto comercial PP333 – Paclobutrazol diluído em 300 mL de água. As aplicações de ácido giberélico (GA₃) e o ethephon foram realizadas a cada 25 dias, através de pulverização foliar. Nas aplicações foliares foi adicionado um surfatante não iônico na dosagem de 0,05% para facilitar a absorção dos produtos.

Os biorreguladores foram aplicados conforme as seguintes dosagens constituindo os tratamentos:

Testemunha = T1; Paclobutrazol (PBZ) = 100 mg L⁻¹, 200 mg L⁻¹ e 300 mg L⁻¹; Ácido giberélico (GA₃) = 30 mg L⁻¹, 60 mg L⁻¹ e 90 mg L⁻¹; Ethephon = 100 mg L⁻¹, 200 mg L⁻¹ e 300 mg L⁻¹.

Foram efetuadas avaliações do sexto ao décimo mês de altura (cm), diâmetro do colo (mm) e medições indiretas do índice de clorofila (Minolta, 1989). As análises estatísticas foram realizadas pelo software SAS/STAT (Statistical Analysis System) nos quais as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos com diferentes dosagens dos biorreguladores vegetais promoveram alterações morfológicas e biométricas nos indivíduos da espécie, mostrando diferenças significativas a 5% pelo teste F para os caracteres estudados (Tabela 1).

O paclobutrazol (PBZ), por ser um inibidor de crescimento, ocasionou alterações morfológicas que já eram esperadas, uma vez que o produto é classificado como um inibidor da síntese de giberelina, controlando o crescimento dos indivíduos. De acordo com vários autores (Meilan, 1997; Moraes, 2007; Moraes et al., 2012), a redução na concentração de giberelinas em tecidos jovens, provocada pelo PBZ, afeta a elongação das células e, em menor grau, a divisão celular, tendo como consequente efeito a redução do crescimento das plantas.

Os valores obtidos para o CV % variaram de 3,7% a 11,4% para as características (Tabela 1), mostrando uma boa precisão do experimento conduzido. De acordo com Garcia (1989), os coeficientes de variação experimental para espécies florestais, em condições de campo, mesmo em valores superiores aos reportados para outras culturas, revelam boa precisão experimental.

Tabela 1. Resumo da análise de variância e médias de altura de plantas (cm), diâmetro do colo (mm) e teor de clorofila (SPAD) em plantas de *E. grandis* aos 10 meses de idade.

Table 1. Summary of analysis of variance and means plant height (cm), stem diameter (mm) and chlorophyll content (SPAD) on plants of *E. grandis* at 10 months of age.

Tratamentos	Altura (cm)	Diâmetro (mm)	Clorofila (SPAD)
T1 = Testemunha	152,6c	25a	40,6b
PBZ = 100 mg L ⁻¹	44,6d	10d	58,3a
PBZ = 200 mg L ⁻¹	47,6d	11d	59,0a
PBZ = 300 mg L ⁻¹	43,4d	13d	60,0a
GA3 = 30 mg L ⁻¹	236,0a	17,7c	39,0b
GA3= 60 mg L ⁻¹	244,6a	18,3c	39,7b
GA3= 90 mg L ⁻¹	263,7a	19,3c	41,0b
Ethefon = 100 mg L ⁻¹	148,0c	22,0b	37,0b
Ethefon = 200 mg L ⁻¹	137,0c	20,7b	40,0b
Ethefon = 300 mg L ⁻¹	138,7c	22,7b	40,7b
Média geral	145,6	18,3	45,6

FV	GL	Quadrado Médio		
		Altura (cm)	Diâmetro (mm)	Clorofila (SPAD)
Trat.	9	20758,3**	77,04**	266,5**
Rep.	2	42,7	18,6	0,83
Erro	18	26,9	4,2	4,8
CV%		3,7	11,4	4,9

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. **Significativo a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

Means followed by the same letter in the column do not differ significantly by Tukey test at 5% error probability. Significant at 5% and 1% probability, respectively, by F test.

As mudanças morfológicas que se tornaram inicialmente nítidas para o *Eucalyptus grandis* foram nas folhas (Figura 1). Os principais sintomas observados foram: ressecamento das folhas terminais; o limbo das folhas maduras tornou coriáceo; curvamento da nervura principal, coloração verde intensa das folhas e internódios curtos.

O ácido giberélico (GA₃), atuou no crescimento dos indivíduos (41%) de *E. grandis* e também promoveu modificações na área e forma das copas em relação à testemunha, desenvolvendo copas anormais, com folhas alongadas.

Isso ocorreu provavelmente devido ao produto fazer parte da rota química de lignificação das paredes celulares dos vegetais

Os biorreguladores PBZ, GA₃ e ethefon, nas dosagens utilizadas, alteraram o crescimento em altura (cm) das plantas de acordo com os resultados observados na Tabela 1 e Figura 2. Com a aplicação do PBZ, o crescimento das plantas cessou, apresentando redução da altura das mudas em 68% aos dez meses de idade, conforme constatado também por Moraes et al. (2012).



Figura 1. Sintomas iniciais de paclobutrazol em *Eucalyptus grandis*.

Figure 1. Early symptoms of paclobutrazol in *Eucalyptus grandis*.

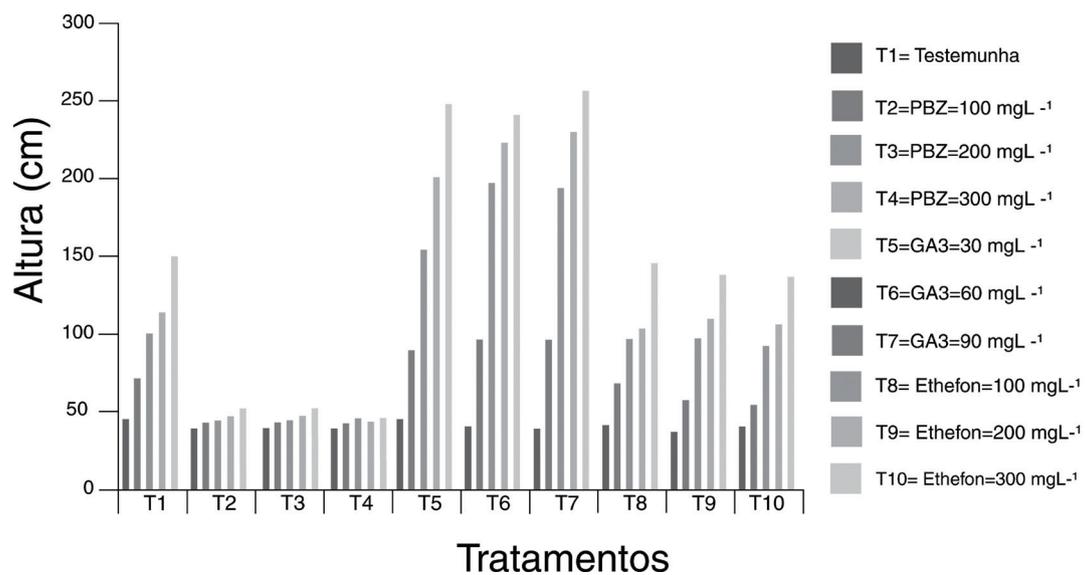


Figura 2. Média de altura (cm) em *E. grandis* sob aplicação de bioreguladores para 5 avaliações.

Figure 2. Average height (cm) *E. grandis* under application of bioregulators during five months.

Segundo Grossmann (1992), quando o PBZ é utilizado em concentrações apropriadas, há alterações morfológicas nítidas nas plantas, sendo a redução na altura uma delas. Griffin et al. (1993), aplicando PBZ via pulverização foliar em árvores de *Eucalyptus nitens*, com dois anos de idade, constataram redução do crescimento em altura das plantas depois de seis meses do tratamento.

O PBZ aplicado parceladamente, via foliar, em mudas de *Eucalyptus globulus*, foi mais efetivo em retardar o crescimento em altura quando comparado à aplicação única na mesma dosagem (Hetherington e Jones, 1990). Hasan e Reid (1995), ao tratarem mudas de *Eucalyptus globulus* com PBZ, também constataram redução da altura dos indivíduos.

A aplicação de diferentes dosagens de PBZ (100 mg L⁻¹, 200 mg L⁻¹ e 300 mg L⁻¹) não promoveram diferenças significativas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade entre os tratamentos com para as características estudadas (Tabela 1). Griffin et al. (1993), estudando *Eucalyptus globulus*, observaram que dosagens diferentes não atuaram de forma mais eficientes na inibição do crescimento em altura da mudas, pois os valores encontrados foram muitos similares.

O GA₃ nas dosagens 30 mg L⁻¹, 60 mg L⁻¹ e 90 mg L⁻¹ como apresentado na Tabela 1, provocou um crescimento acelerado dos indivíduos, alongando especialmente os entrenós, em relação à testemunha (T1) e os demais tratamentos. Isto indica a importância desse biorregulador, como substância promotora de crescimento na espécie *E. grandis* (Huttlly e Phillips, 1995; Moraes et al., 2012), podendo ser um ótimo produto para a produção de mudas de espécies florestais que apresenta crescimento vegetativo lento.

As aplicações de ethephon nas dosagens de 100 mg L⁻¹, 200 mg L⁻¹ e 300 mg L⁻¹, mostraram que o produto é ineficaz em reduzir porte de plantas ou em acelerar o crescimento de *E. grandis*. Smalle e Straeten (1997), estudando outras espécies constataram que o etileno (ethephon) é um eficiente regulador de crescimento de plantas.

Para diâmetro do colo, os biorreguladores promoveram redução no crescimento do colo das plantas, sendo que a testemunha se mostrou superior aos demais, conforme apresentado na Tabela 1.

Nas dosagens de PBZ 100 mg L⁻¹, 200 mg L⁻¹ e 300 mg L⁻¹ as avaliações do Índice Relativo de Clorofila (Tabela 1) foram superiores à testemunha (T1), que apresentaram cor mais intensa com a diminuição do porte das mudas (29%).

O GA₃ na dosagem de 90 mg L⁻¹ e o ethephon nos tratamentos de 200 mg L⁻¹ e 300 mg L⁻¹ não apresentaram diferenças significativas em relação ao tratamento testemunha. Os demais tratamentos aplicadas promoveram alteração na intensidade de cor das folhas. Isso indica que o índice de clorofila pode ser uma característica importante para mostrar o efeito do paclobutrazol na morfologia dos tecidos vegetais.

4 CONCLUSÕES

O PBZ reduziu o porte das plantas, que apresentaram modificações na cor das folhas e no caule se assemelhando ao aspecto de indivíduos adultos e aumento da quantidade de clorofila.

O GA₃ mostrou-se como a principal substância ligada ao desenvolvimento vegetativo da espécie, enquanto o PBZ inibiu a síntese de giberelina, atuando negativamente no desenvolvimento da espécie.

Quanto ao ethephon, nas dosagens utilizadas não corroborou para alterações morfológicas do *E. grandis*.

5 AGRADECIMENTOS

Agradecimentos especiais à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, nas pessoas de seus dirigentes e relatores, e pelo financiamento para a realização da pesquisa. À professora Elizabeth Orika Ono e ao professor João Domingos Rodrigues, pelo entendimento dos conceitos em biorreguladores vegetais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FONSECA, S.M. et al. Manual Prático de Melhoramento Genético do Eucalipto. Viçosa–MG: Ed. UFV, 2010. 200 p.
- GARCIA, C.H. **Tabelas para classificação do coeficiente de variação**. Piracicaba: IPEF, 1989. 12 p. (Circular técnica, 171).
- GRIFFIN, A.R. et al. Effect of paclobutrazol on flower-bud production and vegetative growth in two species of *Eucalyptus*. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 23, p. 640-647, 1993.

- GROSSMANN, K. Plant growth retardants: their mode of action and benefit for physiological research. In: KARSSSEN, C.M.; LOON, L.C. van; VREUGDENHIL, D. (Ed.). **Progress in plant growth regulation**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1992. p. 788-797.
- HASAN, O.; REID, J.B. Reduction of generation time in *Eucalyptus globulus*. **Plant Growth Regulation**, v. 17, p. 53-60, 1995.
- HETHERINGTON, S.; JONES, K.M. Effectiveness of paclobutrazol in retarding height growth of *Eucalyptus globulus* seedlings. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 20, p. 1811-1813, 1990.
- HUTTLY, A.K.; PHILLIPS, A.L. Gibberellin regulated plant genes. **Physiologia Plantarum**, v. 95, p. 310-317, 1995.
- MEILAN, R. Floral induction in woody angiosperms. **New Forests**, v. 14, p. 179-202, 1997.
- MENDONÇA, V. et al. Utilização do paclobutrazol, ethephon e nitrato de potássio na indução floral da mangueira no semi-árido nordestino. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, p. 1285-1292, 2003.
- MINOLTA, C. **Manual for chlorophyll meter SPAD-502**. Osaka: Minolta Radiometric Instruments Divisions, 1989. 22 p.
- MONCUR, M.W.; RASMUSSEN, G.F.; HASAN, O. Effect of paclobutrazol on flower-bud production in *Eucalyptus nitens* espalier seed orchards. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 24, p. 46-49, 1994.
- MORAES, C.B. **Variabilidade genética em progênies de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden sob os efeitos de biorregulador e adubação química**. 2007. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Genética) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, Botucatu.
- MORAES, C.B. et al. Biorreguladores e bioestimulantes em polinização controlada: utilização prática. In: WORKSHOP DE MANEJO DE POMARES DE POLINIZAÇÃO CONTROLADA, Lençóis Paulista. **Anais...** p. 9-12. (Série Técnica IPEF, v. 16, n. 37, 2012).
- PIRES, I.E. et al. **Genética florestal**. Viçosa–MG: Arka, 2011. 318 p.
- SILVA, P.H.M.; MORAES, C.B.; MORI, E.S. **Polinização controlada em eucaliptos nas empresas florestais brasileiras**. Piracicaba: IPEF, 2012. 15 p. (Circular Técnica IPEF, n. 204).
- SMALLE, J.; STRAETEN, D. van der Ethylene and vegetative development. **Physiologia Plantarum**, v. 100, p. 593-605, 1997.
- STEFFENS, G.L.; BYUN, J.K.; WANG, S.Y. Controlling plant growth via the gibberellin biosynthesis system. I: Growth parameter alterations in apple seedlings. **Physiologia Plantarum**, v. 63, p. 163-168, 1985.
- SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT software: changes and enhancements, release 6.07** ed. Cary, 1992. (SAS Tech. Rep. p-229).
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.
- ZIMBACK, L. et al. Correlações entre caracteres silviculturais durante o crescimento de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden. **Rev. Inst. Flor.** v. 23, n. 1, p. 57-67, 2011.
- WILLIAMS, D.R.; POTTS, B.M.; SMETHURST, P.J. Promotion of flowering in *Eucalyptus nitens* by paclobutrazol was enhanced by nitrogen fertilizer. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 33, p. 74-81, 2003.
- WILTSHIRE, R.J.E.; POTTS, B.M.; REID, J.B. Genetic control of reproductive and vegetative phase change in the *Eucalyptus risdonii* – *Eucalyptus tenuiramis* complex. **Australian Journal of Botany**, v. 46, p. 45-63, 1998.