

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROBIOLOGIA

Marjana Machado dos Santos

**ANÁLISE ESTRUTURAL DA RIZOGÊNESE ADVENTÍCIA DE
Acacia mearnsii DE WILD. E DE *Ilex paraguariensis* A. ST.-HIL.**

Santa Maria, RS

2023

Marjana Machado dos Santos

ANÁLISE ESTRUTURAL DA RIZOGÊNESE ADVENTÍCIA DE *Acacia mearnsii* DE WILD. E DE *Ilex paraguariensis* A. ST.-HIL.

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Área de Concentração em Caracterização de Espécies Vegetais em Ambiente Natural e/ou Modificado, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Agrobiologia**.

Orientador: Prof. Dr. João Marcelo Santos de Oliveira

Santa Maria, RS

2023

Marjana Machado dos Santos

ANÁLISE ESTRUTURAL DA RIZOGÊNESE ADVENTÍCIA DE *Acacia mearnsii* DE WILD. E DE *Ilex paraguariensis* A. ST.-HIL.

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Área de Concentração em Caracterização de Espécies Vegetais em Ambiente Natural e/ou Modificado, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Agrobiologia**.

Aprovado em 10 de fevereiro de 2023:

João Marcelo Santos de Oliveira, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Dilson Antônio Bisognin, PhD. (UFSM)

Kelen Haygert Lencina, Dr^a (UFSC)

Santa Maria, RS

2023

Santos, Marjana Machado dos
ANÁLISE ESTRUTURAL DA RIZOGÊNESE ADVENTÍCIA DE *Acacia mearnsii* DE WILD. E DE *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. /Marjana Machado dos Santos.- 2023.
96 p.; 30 cm

Orientador: João Marcelo Santos de Oliveira Dissertação (mestrado) -
Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de Pós-Graduação em
Agrobiologia, RS, 2023

1. acacia-negra 2. erva-mate 3. raízes adventícias 4. anatomia de órgãos vegetativos I. Oliveira, João Marcelo Santos de II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, MARJANA MACHADO DOS SANTOS, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

A minha família, em especial aos meus pais, Belmiro e Solange

Aos meus irmãos, Sander, Jander e Evelise

Ao meu namorado Mateus

Aos meus sogros Ilto e Helena

Com muito amor.

Dedico...

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradecer a Deus, que em cada obstáculo me mostrou que, com fé, perseverança, paciência, sabedoria, discernimento e com muita resiliência poderia vencer qualquer dificuldade e por conseguir realizar essa pesquisa.

Ao professor João Marcelos Santos de Oliveira, meu orientador, pelos conhecimentos compartilhados, pela paciência, por todo o apoio profissional e pessoal e a confiança que depositou em mim.

A Universidade Federal de Santa Maria, ao Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, e todos os professores que contribuíram para o meu aprendizado.

Ao professor Dilson Antônio Bisognin pela parceria na realização deste trabalho e a Empresa TANAC.

A Renata Avinio e a Denise Gazzana pela parceria e a ajuda de sempre.

A Dr^a Kelen Lencina pela disponibilidade e sugestões na melhoria deste estudo, sobretudo pelos conhecimentos compartilhados.

Aos colegas e amigos do LABOTE, Ana, Mariza, Maria, Igor e minha amiga do coração Roberta Maidana por todo incentivo, apoio e ajuda de sempre.

As minhas colegas Cássia Becker e Amanda Fritzen por todas as horas de conversa, incentivo e pela amizade.

Minha família, meus pais Solange Maria Machado e Belmiro de Jesus dos Santos, meus sogros Helena Baratto Cancian e Ilto Cancian, meus irmãos Sander, Jander, Evelise pelo incentivo, apoio, amor e carinho. Ao meu namorado Mateus Cancian por todo amor, força, compreensão e incentivo em todos os momentos. Muito obrigada vocês foram meu porto seguro nesta trajetória, fizeram parte para que este sonho se tornasse realidade. Amo muito vocês!

Muito Obrigada a todos que de alguma forma contribuíram com o desenvolvimento desta pesquisa.

MINHA GRATIDÃO!

“Queremos ter certezas e não dúvidas, resultados e não experiências, mas nem mesmo percebemos que as certezas só podem surgir através das dúvidas e os resultados somente através das experiências.”

Carl Jung

RESUMO

ANÁLISE ESTRUTURAL DA RIZOGÊNESE ADVENTÍCIA DE *Acacia mearnsii* DE WILD. E DE *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.

AUTORA: Marjana Machado dos Santos

ORIENTADOR: João Marcelo Santos de Oliveira

Este trabalho teve como objetivo, a descrição anatômica da rizogênese de miniestacas, provenientes de clones selecionados do enraizamento adventício de *A. mearnsii* (acácia-negra) e de *I. paraguariensis* (erva-mate), como também, trazer novos insights, de como as barreiras podem afetar o enraizamento adventício. Para tanto, analisou-se características anatômicas de miniestacas semilenhosas clones de *A. mearnsii* e *I. paraguariensis* tratadas com ácido indolbutírico (AIB), cultivadas em bandejas de polietileno com substrato comercial a base de casca de pinus, areia de granulometria grossa e vermiculita média, mantidas em câmara úmida. Foram coletadas miniestacas clones de acácia-negra (B5, AB6, A1845) com intervalos no tempo 0, 1, 5, 10, 15 e 30 dias e da erva-mate foram coletados clones (13SM05, 10SM07, 06SM15) aos 0, 30 e 60 dias. Realizaram-se testes histoquímicos para detectar a presença de amido, e de metabólitos primários e secundários com a rizogênese. Verificou-se o local de origem dos primórdios radiculares. Os resultados gerais contribuíram para compreender o processo do enraizamento das ambas as espécies, sendo que, acácia-negra, independente da camada esclerênquima na região do floema, não foi uma barreira anatômica aqui para o presente estudo, pois a formação de raízes ocorreu de forma geral pela proliferação endoderme, tecido vascular e pela atividade do floema primário e secundário para formar as novas células. Em acácia-negra, também se verificou que a ausência de tecido, devido à ocorrência de fungos nas primeiras horas de cultivo, apareceu como tal barreira ambiental, para esses clones estudados. Na erva-mate, a presença de amido em abundância foi marcante nos clones com maior competência de enraizamento, já para acácia-negra foi indiferente. Observou também que pequenas diferenças entre as espécies, podem estar associadas à velocidade de resposta para o enraizamento adventício. Porém a formação de raízes adventícias em ambas as espécies e clones estudados apresentaram semelhança, desde formação do calo, vascularização adventícia e formação de raízes pelo padrão indireto. Portanto, para as ambas as espécies estudadas, a rizogênese apresentaram barreiras, mas estas

não são necessariamente anatômicas.

Palavras-chave: acacia-negra, erva-mate, raízes adventícias, anatomia de órgãos vegetativos.

ABSTRACT

STRUCTURAL ANALYSIS OF ADVENTIC RHIZOGENESIS OF *Acacia mearnsii* DE WILD. AND FROM *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.

AUTHOR: Marjana Machado dos Santos

ADVISER: João Marcelo Santos de Oliveira

The objective of this work was the anatomical description of the rhizogenesis of minicuttings, from clones selected from the adventitious rooting of *A. mearnsii* (black wattle) and *I. paraguariensis* (yerba mate), as well as to bring new insights on how barriers can affect adventitious rooting. For this purpose, anatomical characteristics of semi-hardwood minicuttings clones of *A. mearnsii* and *I. paraguariensis* treated with indolbutyric acid (IBA), grown in polyethylene trays with commercial substrate based on pine bark, coarse grained sand and medium vermiculite were analyzed. , kept in a humid chamber. Black wattle minicuttings (B5, AB6, A1845) were collected at intervals of 0, 1, 5, 10, 15 and 30 days and yerba mate clones (13SM05, 10SM07, 06SM15) were collected at 0, 30 and 60 days. Histochemical tests were performed to detect the presence of starch, and primary and secondary metabolites with rhizogenesis. The place of origin of the root primordia was verified. The general results contributed to understand the rooting process of both species, and black wattle, regardless of the sclerenchyma layer in the phloem region, was not an anatomical barrier here for the present study, since the formation of roots occurred in a endodermal proliferation, vascular tissue and primary and secondary phloem activity to form new cells. In black wattle, it was also verified that the absence of tissue, due to the occurrence of fungi in the first hours of cultivation, appeared as such an environmental barrier, for these studied clones. In yerba mate, the presence of starch in abundance was remarkable in clones with greater rooting competence, whereas for black wattle it was indifferent. He also observed that small differences between species may be associated with the response speed for adventitious rooting. However, the formation of adventitious roots in both species and studied clones showed similarity, from callus formation, adventitious vascularization and root formation by the indirect pattern. Therefore, for both studied species, rhizogenesis presented barriers, but these are not necessarily anatomical.

Keywords: black wattle, yerba mate, adventitious roots, anatomy of vegetative organs.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

FIGURA 1 – Árvore (A), casca (B), inflorescência (C) de acácia-negra.....	17
FIGURA 2 – Distribuição de áreas plantadas do cultivo de acácia-negra no RS.....	18
FIGURA 3 – Produtos e subprodutos derivados da <i>A. mearnsii</i>	19
FIGURA 4 – Distribuição de ocorrência natural da <i>I. paraguariensis</i> no Brasil.....	21
FIGURA 5 – Árvore de erva-mate (A), casca (B), madeira (C), folhas e flores (D), frutos (E) e sementes (F).....	22

CAPÍTULO I

FIGURA 1 – Cortes histológicos na base de miniestacas de <i>A. mearnsii</i> em tempo zero.....	49
FIGURA 2 – Seções transversais com detalhamento anatômico do caule.....	51
FIGURA 3 – Seções transversais com detalhamento anatômico de estruturas e tecidos.....	53
FIGURA 4 – Seções transversais e longitudinais de cortes histológicos de miniestacas de acácia-negra	55
FIGURA 5 – Seções transversais de cortes histológicos de miniestacas em T10 e T15.....	58
FIGURA 6 – Seções transversal e longitudinal na região basal das miniestacas de <i>Acacia mearnsii</i> demonstrando a formação dos primórdios radiculares em 30 dias.....	60

CAPÍTULO II

FIGURA 1 – Seções transversais (A, B) e longitudinal (C) do caule do clone B5 de <i>Acacia mearnsii</i> no tempo zero	73
FIGURA 2 – Seções transversais (A, B) e longitudinais (C, D) de caules dos clones 10SM07 e 06SM15 de <i>Ilex paraguariensis</i> no tempo zero.....	75
FIGURA 3 – Seções transversais na região da base das miniestacas de clones de <i>A. mearnsii</i>	77
FIGURA 4 – Seções transversais na região da base das miniestacas do clone AB6 de <i>Acacia mearnsii</i>	79
FIGURA 5 – Vista lateral (A,B) e seções transversais de miniestacas (C-F) de clones de <i>Acacia mearnsii</i>	81
FIGURA 6 – Vistas laterais de caules do clone 13SM05 (A)(B) e seções longitudinais de caules do clone 10SM07 (C)(D) de <i>Ilex paraguariensis</i> aos 30 dias de cultivo.....	83
FIGURA 7 – Seções transversais <i>Acacia mearnsii</i> (A, B) e <i>Ilex paraguariensis</i> (C, D).....	85

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVO GERAL	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3	REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1	CARACTERIZAÇÃO E IMPORTÂNCIA DAS ESPÉCIES	16
3.1.1	<i>Acacia mearnsii</i>	16
3.1.2	<i>Ilex paraguariensis</i>	20
3.2	PROPAGAÇÃO VEGETATIVA.....	24
3.3	DESCRIÇÃO GERAL DO CAULE.....	26
3.4	ENRAIZAMENTO ADVENTÍCIO	27
3.5	CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA DO ENRAIZAMENTO ADVENTÍCIO.....	28
4	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
5	Capítulo I – ESTUDOS HISTOLÓGICOS DA RIZOGÊNESE ADVENTÍCIA DE CLONES SELECIONADOS DE <i>Acacia mearnsii</i> DE Wild.	43
	INTRODUÇÃO.....	45
	MATERIAL E MÉTODOS.....	47
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
	CONCLUSÃO.....	61
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
6	Capítulo II – ESTUDOS HISTOLÓGICOS EM <i>Acacia mearnsii</i> DE Wild E <i>Ilex paraguariensis</i> A. ST.-HIL. REVELAR NOVOS INSIGHTS SOBRE AS BARREIRAS AO ENRAIZAMENTO ADVENTÍCIO.	66
	INTRODUÇÃO.....	68
	MATERIAL E MÉTODOS.....	70
	RESULTADOS	72
	DISCUSSÃO.....	86
	CONCLUSÃO.....	90
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	96

1 INTRODUÇÃO

A maior parte dos produtos de origem silvicultural é da composição de plantios florestais, que advém das crescentes demandas dos setores industriais, associado as suas características desejáveis de produção (BARRETO et al., 2007). No Brasil a partir dos anos 2000 houve um crescimento de mercado por produtos florestais, direcionando a silvicultura a buscar aperfeiçoar e desenvolver técnicas, que ampliassem a produtividade econômica e sustentável dos povoamentos (XAVIER; SILVA, 2010; FARIA et al., 2019).

Além disso, a maior parte das espécies florestais é propagada por mudas, sendo assim, um dos principais critérios que garante o êxito de um povoamento florestal é a qualidade das mudas e seu posterior desempenho no campo (ARAÚJO et al., 2018). Desse modo, a propagação vegetativa de plantas é uma alternativa para atender as demandas de produção de mudas, por meio da utilização de estacas, através, dos métodos da estaquia e miniestaquia, (FARIA et al., 2019).

A estaquia é um processo de produção de mudas, nas quais, a origem dos propágulos é o resgate vegetativo de matrizes a campo, no entanto, a miniestaquia baseia-se em retiradas de brotos formados em minicepas cultivadas em minijardins clonais, geralmente estabelecidos em casas de vegetação, as quais formarão mudas idênticas à planta mãe doadoras dos propágulos (XAVIER et al., 2013; LEGUE et al., 2014). Portanto, o enraizamento adventício leva a formação de novas raízes na base das miniestacas, configurando o estabelecimento de uma planta autônoma (COSTA et al., 2013).

Sendo assim, a chave da propagação vegetativa é a formação e o desenvolvimento de raízes adventícias (LEGUE et al., 2014), importantíssimo critério de seleção de genótipos superiores para a indústria florestal (HARTMANN et al., 2018). Mas apesar dos esforços das últimas décadas para entender os processos anatômicos, fisiológicos e bioquímicos do enraizamento adventício em espécies florestais, a formação de raiz adventícia permanece indefinida para algumas espécies (FARIA et al., 2019). Desse modo, o conhecimento da estrutura interna do caule é fundamental para elucidar a compreensão desses processos de formação de primórdios radiculares (HARTMANN et al., 2018).

Pois, segundo Xavier et al. (2013), o enraizamento adventício é um processo fisiológico e anatômico complexo, devido à raiz adventícia ser induzida em local diferente no sistema axial. E ainda, o controle de desenvolvimento das células e da formação de raízes são influenciados por vários fatores, como, auxinas, compostos fenólicos, condições fisiológicas,

substâncias nitrogenadas, carboidratos, aminoácidos, de modo que, as concentrações e proporções dessas substâncias são responsáveis pela emissão de raízes adventícias (XAVIER et al., 2013).

Além disso, a presença de carboidratos estimula diretamente a resposta de enraizamento, pois é fonte de energia para a biossíntese de ácidos nucleicos e proteínas, além dos açúcares que irão construir paredes celulares em ampla formação (ALMEIDA et al., 2017; HARTMANN et al., 2018). Mas, entende-se que o desenvolvimento de raízes se trata de um processo variável de acordo com a espécie e o clone, como também, da sua complexidade intrínseca ao processo (ZHANG et al., 2016).

No Brasil, a *Acacia mearnsii* e a *Ilex paraguariensis* se destacam na silvicultura e apresentam grande importância econômica e social ao Estado do Rio Grande do Sul. *A. mearnsii* devido à produção de madeira e extração de tanino oriundo de sua casca (CHAN et al., 2015). Já a *I. paraguariensis* sua importância ocorre devido as suas folhas e aos ramos finos, que são utilizados no chimarrão (EMBRAPA, 2018).

No entanto, *Acacia mearnsii* possui sistema radicular superficial, tornando-se susceptível ao tombamento de mudas a campo (KANNEGIESSER, 1990), sendo que, um dos desafios para produção de mudas da espécie é o enraizamento adventício em decorrência de genótipos com baixo desempenho, ou mesmo sem capacidade de enraizar (BRONDANI et al., 2012). Neste sentido, o objetivo da silvicultura para produção de mudas da *A. mearnsii* é formar raízes mais fortes e profundas, por meio da propagação vegetativa, as quais visam maximizar e otimizar o desenvolvimento de raízes adventícias.

Neste contexto, considerando a relevância econômica e social da *Acacia mearnsii* e da *Ilex paraguariensis* principalmente para o Sul do Brasil, a falta de informações sobre o processo da rizogênese adventícia das espécies tornam-se relevantes cientificamente o desenvolvimento de estudos voltados para o enraizamento adventício. Especialmente no que se refere à descrição do processo da rizogênese, este trabalho possui o intuito de estabelecer bases estruturais como parte do esforço para seleção de clones de *A. mearnsii* e *I. paraguariensis*, de modo, a auxiliar a produção de mudas comercial das espécies.

2 OBJETIVO GERAL

Analisar e descrever a rizogênese adventícia de clones de *Acacia mearnsii* e de *Ilex paraguariensis*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i) Descrever anatomicamente o caule das miniestacas *A. mearnsii* e de *I. paraguariensis*;
- ii) Descrever a rizogênese adventícia de ambas as espécies;
- iii) Verificar as bases funcionais das raízes adventícias;
- iv) Comparar o enraizamento adventício de *A. mearnsii* com o da *I. paraguariensis*;
- v) Correlacionar, por meio de testes histoquímicos, se metabólitos primários e secundários estão associados com a rizogênese.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 CARACTERIZAÇÃO E IMPORTÂNCIA DAS ESPÉCIES

3.1.1 *Acacia mearnsii*

O gênero *Acacia* pertence à família Fabaceae, e a subfamília Mimosoideae, composta por mais de 1300 espécies (BOLAND et al., 1984). *Acacia mearnsii* De Wild (acácia-negra) é nativa das regiões do sudeste da Austrália e da Tasmânia, onde se encontra em áreas de pequeno declive em planaltos, planícies costeiras e nas terras baixas (HIGA et al., 2009; SUYENAGA et al., 2015).

A acácia-negra é uma espécie que se adapta a diversos tipos de topografia, solos e clima (BARICHELLO, 2003), e apresenta um bom desenvolvimento em solos bem drenados, com textura média, e moderadamente profundos (SILVA et al., 2013). Possui baixo desenvolvimento em solos muito ácidos, de baixa fertilidade e não tolera solos hidromórficos e mal drenados (HIGA et al., 2009).

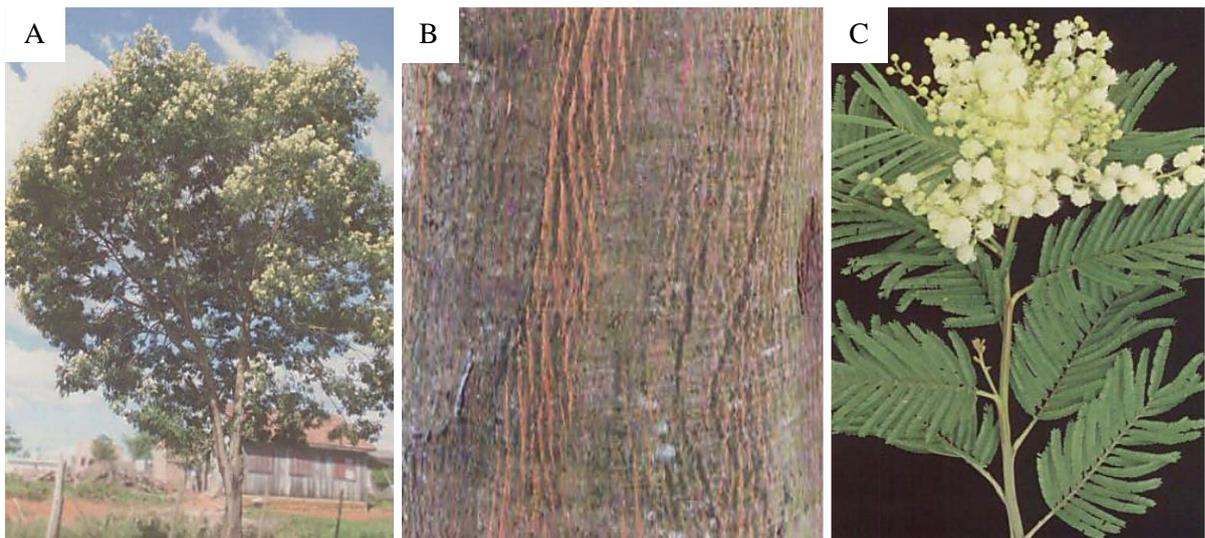
É uma espécie pioneira de rápido crescimento e ciclo curto (10-15 anos), atingindo a maturidade de corte com sete anos. Além disso, é uma planta fixadora de nitrogênio eficiente, possuindo aptidão em se adaptar em áreas alteradas e degradadas (COSTA et al., 2014), em função da deposição de folhas rica em nitrogênio (SANQUETTA et al., 2014).

A acácia-negra varia de arbusto à árvore pequena (Figura 1A), semidecídua, com altura entre 6 a 10 metros, podendo atingir até 15 metros de altura, com tronco geralmente reto e dominante. A estrutura e composição química da casca variam ao longo do desenvolvimento, sendo que na fase mais jovem é mais fina, lisa e de coloração mais clara, enquanto que, na fase adulta apresenta coloração preto-amarronzada, dura e fissurada (Figura 1B). A madeira da acácia-negra tem densidade básica de, aproximadamente, 800 kg m⁻³, apresenta alburno muito claro, cerne marrom-claro, com marcas avermelhadas, muito duro e resistente, quanto à textura, é boa, mas comumente possui grã reversa ou entrelaçada, com durabilidade baixa a moderada (BOLAND et al., 1984).

A. mearnsii possui folhas bipinadas, com 8 a 21 pares de pinas, cada um com 15 a 70 pares de folíolos, com o comprimento de 1,5 a 4,9 mm por 0,5 a 0,7 mm de largura. As mudas dessa espécie apresentam folhagem com 4 a 8 pares opostos de pinas, de coloração verde-escuro, e cada pina é formada por 20 a 25 pares de folíolos oblongos. As inflorescências são de cor amarelo-creme, em panículas terminais com flores hermafroditas e muito perfumadas

(Figura 1C). Seus frutos são legumes (vagens), com comprimento de 5 a 15 cm, e de 4 a 8 mm de largura, geralmente retos, finamente pilosos, alongados entre as sementes. Quanto ao amadurecimento dos frutos, esse ocorre de 12 a 14 meses após floração. Cada legume apresenta 1 a 14 sementes ovóides de cor preta, com comprimento entre 3 a 5 mm, as quais se caracterizam por apresentar um arilo terminal curto de cor creme (BOLAND et al., 1984).

Figura 1 – Árvore de *A. mearnsii* (A), casca adulta (B) e inflorescência (C).



Fonte: LORENZI et al. (2003).

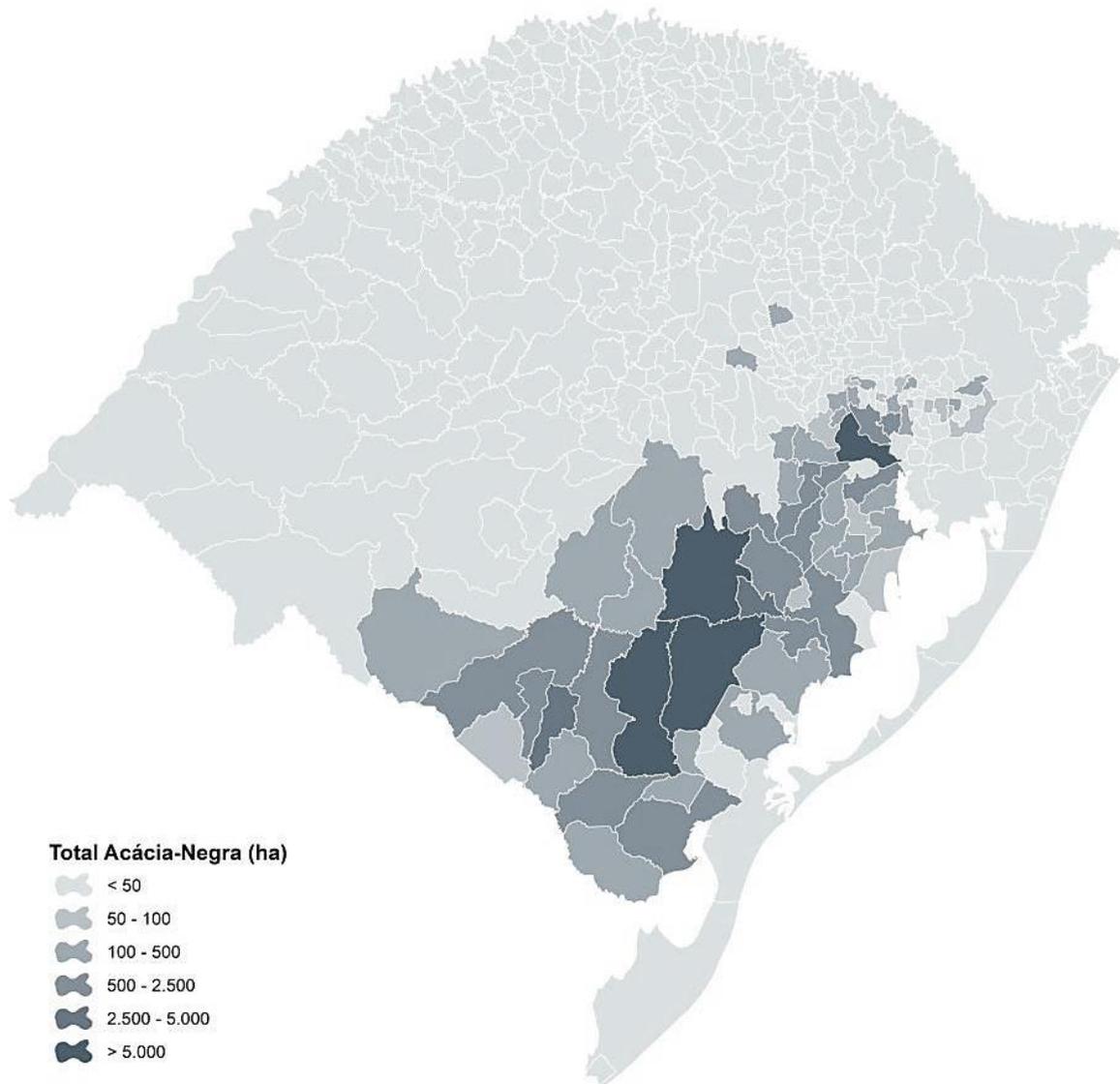
Para a sementeira é necessário realizar a superação de dormência. Devido à semente da acácia-negra apresentar um tegumento impermeável, normalmente o processo mais utilizado superação de dormência é a imersão das sementes em água aquecida, na temperatura de 100°C, pelo período de um minuto (RIVEIRO et al., 2020).

Atualmente no Brasil acácia-negra é uma espécie de importância econômica, caracterizando-se como uma floresta plantada para fins comerciais (SCHUMACHER et al., 2016). O plantio de acácia-negra no Rio Grande do Sul (RS) ocorre desde 1928, abrangendo 84 cidades gaúchas (Figura 2), sobretudo, na metade sul do Estado, em regiões da Depressão Central, Escudo Sul Riograndense e Serra do Sudeste. Apresenta uma área de plantio de 90 mil hectares, envolvendo cerca de 40 mil famílias (AGEFLOR, 2020).

Os municípios gaúchos com maior área plantada de *A. mearnsii* são Encruzilhada do Sul (14.107 ha), Piratini (10.490 ha) e Triunfo (9.328 ha), abrangendo, aproximadamente, 34 mil hectares (AGEFLOR, 2020). Também apresenta importância de cunho social, pelo fato,

de que grande parte do cultivo de acácia está em domínio de pequenos e médios produtores independentes (reflorestadores) (AGEFLOR, 2020).

Figura 2 – Distribuição das áreas plantadas de acácia-negra no Estado do Rio Grande do Sul - RS.



Fonte: Adaptado AGEFLOR (2020).

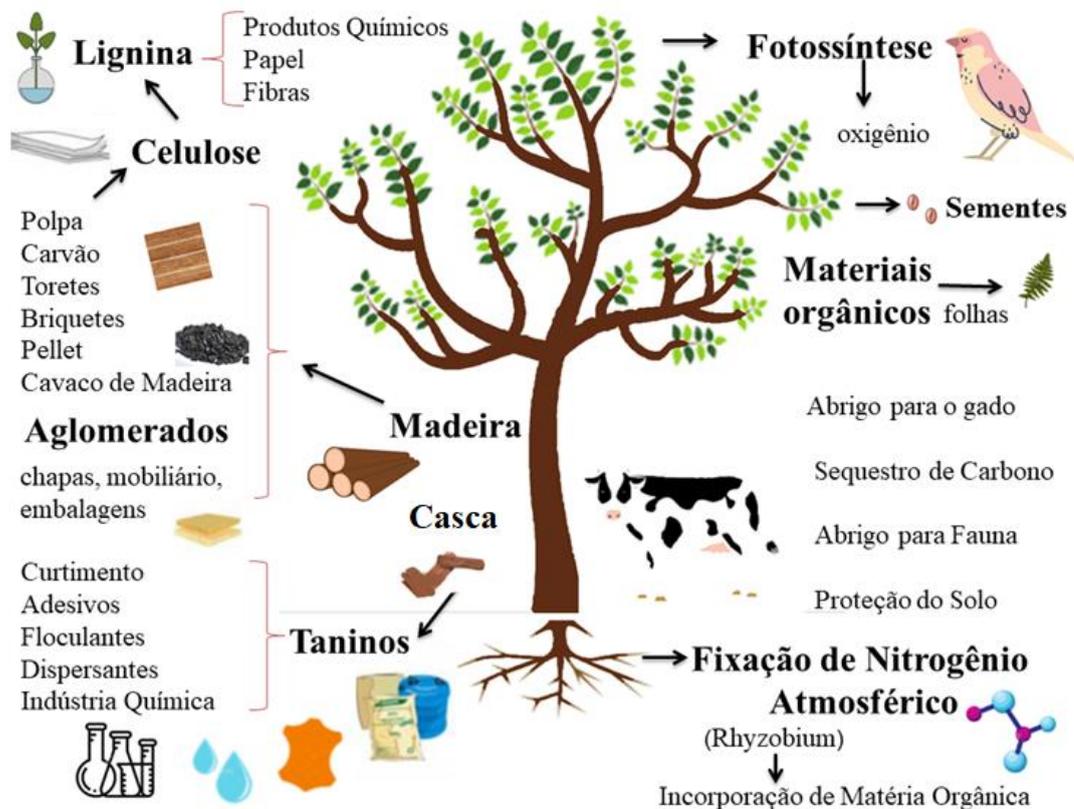
Acacicultura é uma atividade social e econômica, que propicia benefícios e renda a vários produtores do RS (AGEFLOR, 2019), gerando impactos positivos para região, como aumento PIB e no IDH, promovendo instalações de indústrias, fábricas, comércio e empregos (PASA, 2018). Além disso, acácia-negra permite o cultivo consorciado em propriedades rurais, através de sistemas agroflorestais (SAF'S), como também a integração da acacicultura

com outras culturas agrícolas, e pecuárias (VIERA et al., 2013; AGEFLOR, 2020).

O principal produto da acácia-negra é o tanino, oriundo da extração de sua casca, utilizado, principalmente, na indústria coureira, como também à produção de adesivos e floculantes (AGEFLOR, 2020). Devido à qualidade e o rendimento da casca para extração do tanino, se dá o reconhecimento dessa espécie em plantios de reflorestamento no estado do RS, no qual, concentra-se majoritariamente sua produção no país (SFB, 2018; AGEFLOR, 2020).

Acácia-negra também tem despertado interesse das indústrias com a produção de cavacos para a fabricação de celulose, carvão vegetal, painéis reconstituídos, geração de energia, nutrição animal, como também, o de mercado de adesivos, clarificação de açúcares, antioxidantes orgânicos para várias aplicações nas indústrias farmacêuticas, como produtos de uso pessoal, tais como, cosméticos, shampoo e químicos (KRISNAWATI et al., 2011; AGEFLOR, 2020) (Figura 3).

Figura 3 – Produtos e subprodutos derivados da *A. mearnsii*.



Fonte: Adaptação de SILVA (2011).

A espécie também é uma eficiente fixadora de nitrogênio atmosférico, pela associação simbiótica com bactérias e fungos (POLETTTO et al., 2006). Além disso, apresenta potencial em recuperar áreas degradadas, como também, recuperar gradativamente a matéria orgânica do ecossistema, em prol, de aumentar a disponibilidade e a ciclagem de nutrientes (POLETTTO et al., 2006; CECONI et al., 2008). Segundo Tonini et al. (2010), no decorrer dos últimos anos a acácia-negra vem sendo aplicada em programas de reflorestamento com o viés de espécie sequestradora de carbono.

Ainda, no RS estão instaladas duas principais indústrias responsáveis pela produção de tanino no país, que abastecem todo o mercado brasileiro, gerando excedentes para a exportação, visto que o Brasil juntamente com a África do Sul (CHEN et al., 2016; GRASEL et al., 2017), são os dois principais produtores de acacicultura, chegando a representar cerca de 89% de toda produção de tanino mundial (GRIFFIN et al., 2011).

3.1.2 *Ilex paraguariensis*

A *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil. é conhecida popularmente como erva-mate, espécie nativa do Estado do Rio Grande do Sul (PIMENTEL, 2020), pertencente à família das Aquifoliaceae, composta por 58 espécies no Brasil (BRUXEL et al., 2018), todas do gênero *Ilex* (SOUZA; LORENZI, 2012), das quais 42 são endêmicas, e apenas 8 ocorrem no RS, mas somente a *I. paraguariensis* é utilizada para consumo (GROPPO, 2013). A erva-mate tem hábito adaptado e tolerante à sombra, é uma espécie de característica da Floresta Ombrófila Mista Montana em associações com o pinheiro-do-paraná (*Araucaria angustifolia* Bert.), apresenta ciclo de vida longo, como também têm grande interação com a fauna, beneficiando a polinização e dispersão de sementes (CARVALHO, 2003).

A *I. paraguariensis* ocorrem em climas temperado e subtropical (Cfb e Cfa, segundo Koeppen), com chuvas regulares e distribuídas ao longo do ano, com médias de 1500 a 2000 mm (EMBRAPA, 2013). As temperaturas médias anuais variam de 15 a 18°C, com geadas frequentes ou pouco frequentes, dependendo da altitude, que varia de 500 a 1500 m sobre o nível do mar (IBGE, 2017). Ocorre principalmente em solos de baixa fertilidade, profundos e não compactados (SAUERESSIG, 2014). Geralmente esses solos apresentam baixos teores de cátions trocáveis, altos teores de alumínio e pH baixo (CARVALHO, 2003).

No entanto, são solos bem drenados, sem restrição ao sistema radicular, com horizontes A, B e C ácidos e com elevado teor de matéria orgânica (DANIEL, 2009), pois, a erva-mate não tolera solos encharcados e/ou compactados, visto que, solos com menos de um

metro de profundidade causam queda na produtividade e reduzem a vida útil das plantas (EMBRAPA, 2013). Além disso, a espécie apresenta importância ecológica em recuperação de áreas degradadas, como também na recomposição vegetal do ambiente (FERLA et al., 2018).

A distribuição natural de erva-mate delimita-se em três países, sendo eles, o Brasil, Paraguai e Argentina (GELSLEICHTER, 2020). No Brasil a espécie ocorre naturalmente no Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, sul da Bahia, Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Figura 4), totalizando uma área de 450.000 Km² (GERHARDT, 2013).

Figura 4 – Distribuição de ocorrência natural da *I. paraguariensis* no Brasil.

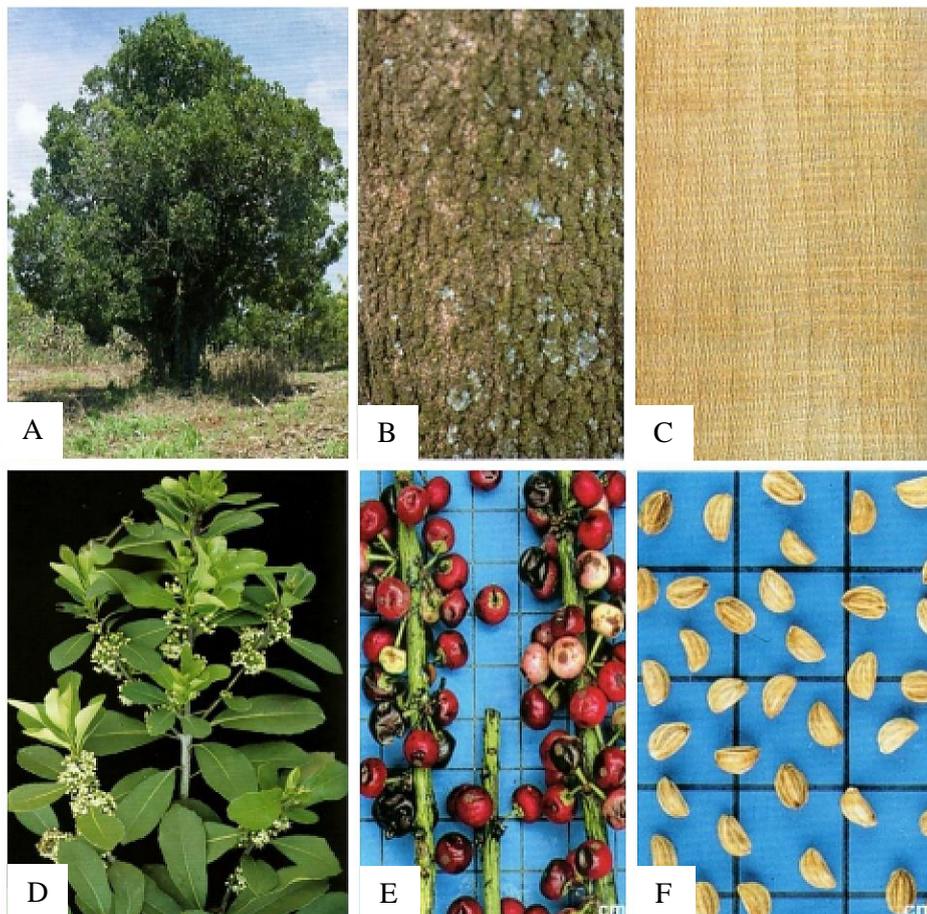


Fonte: Adaptação de CARVALHO (2003).

A erva-mate é uma espécie que varia de arbusto à árvore perenifólia (Figura 5A), podendo atingir até 15 m de altura (BRACESCO et al., 2011), e 40 cm de diâmetro altura do peito (DAP) (BACKES; IRGANG, 2002), porém, em condições naturais sua altura pode atingir até 30 m e 100 cm de DAP (CARVALHO, 2003). Apresenta tronco cilindro reto ou pouco tortuoso, com coloração da casca externa cinza-claro a acastanhada, com aspecto áspero a rugoso, com algumas lenticelas (Figura 5B), e a casca interna de coloração branco-amarelada com textura arenosa (Figura 5C) (CARVALHO, 2003).

A *I. paraguariensis* apresenta folhas com coloração verde-escura, simples, alternas, coriáceas (Figura 5D), de 8 a 10 cm de comprimento e 3 a 4 cm de largura (LORENZI, 2008). É uma espécie dióica, que apresenta flores geralmente tetrâmeras (Figura 5D), de até 7 mm de diâmetro. Os frutos são do tipo bagas esféricas, com 4 sementes, de tonalidade vermelha a negra (Figura 5E), com até 5,5 mm de diâmetro (PIRES et al., 2014).

Figura 5 – Árvore de erva-mate (A), casca (B), madeira (C), folhas e flores (D), frutos (E) e sementes (F).



Fonte: CARVALHO (2003); LORENZI (2008).

A floração ocorre geralmente de setembro a novembro no estado do Paraná; de setembro a outubro no Rio Grande do Sul e de setembro a dezembro em Santa Catarina (BRITO et al., 2019), porém em novembro, mais de 50% das plantas já estão floridas no estado de Santa Catarina (PIRES et al., 2014).

As sementes de erva-mate são pequenas de 4 a 6 mm de diâmetro, apresentando superfície lisa, coloração marrom que varia de claro a escuro, tegumento duro e formato variável (Figura 5F) (MARIATH et al., 1995). Atualmente, os viveiristas utilizam para semeadura a estratificação das sementes de erva-mate em areia úmida por períodos de 4 a 6 meses (SOUZA et al., 2019) para a superação da dormência das sementes.

O principal produto da erva-mate é oriundo de suas folhas e ramos finos, que são utilizados no preparo do chimarrão, tererê, mate gelado e do chá mate, conferindo à espécie importância social e comercial (FERRON, 2013; EMBRAPA, 2018). Desse modo, o cultivo da *I. paraguariensis* gera mais de 710 mil empregos diretos, abrangendo cerca de 180 mil propriedades localizadas ao sul do Brasil e no Mato Grosso do Sul, em sua maioria pequenas e médias propriedades rurais, movimentando mais de R\$ 175 milhões anuais (EMBRAPA, 2018).

O Brasil é considerado o maior produtor mundial de erva-mate (BONFANTI JUNIOR et al., 2018) devido a sua produção por área ser uma das mais elevadas mundialmente (8.176,5 Kg/ha), totalizando aproximadamente 619 mil toneladas, seguida por 290 mil toneladas na Argentina e de 105 mil toneladas no Paraguai em 2017 (FAO, 2019).

Rossa (2013) ressalta que a erva-mate vem sendo um dos principais produtos agrícolas da região Sul do Brasil, devido à espécie apresentar relevância e potencial cultural, social e econômico principalmente no Estado do RS, no qual, é o maior consumidor de *I. paraguariensis* no Brasil que consomem anualmente 70.000 toneladas, seguido dos Estados de Santa Catarina e Paraná, consumo de 20.000 e 15.000 ton/ano (UFRGS, 2013). Além disso, os ervais tem despertado interesse da indústria com os seus múltiplos usos terapêuticos e nutracêuticos das folhas de erva-mate.

Visto que, na última década têm aumentado a utilização da matéria-prima de *I. paraguariensis* para a industrialização de novos produtos e subprodutos para atender a expansão do mercado, como a fabricação de alimentos (chocolate, farimate, sorvete); bebidas (absinto, bebida hidroeletrólítica, cerveja, espumante, chás solúveis, bebida energética, chámate); cosméticos (creme hidratante corporal e facial, desodorante colônia, flúido termoprotetor, gloss labial, loção de limpeza demaquilante, shampoo e condicionador de cabelos); produtos de higiene e limpeza (água de cheiro para tecidos, aromatizador de

ambiente, espuma de banho e de barbear, loção pós-sol, sabonete em barra e líquido, sal de banho, velas), produtos para saúde (erva-mate em cápsulas e florais) e outros (corante de tecidos) (DALLABRIDA et al., 2016).

Ainda, Silveira e Schultz (2019), relatam a importância que o mercado da *Ilex paraguariensis* vem crescendo e desenvolvendo em outros países como, por exemplo, Argentina e Paraguai, em decorrência, aos múltiplos usos alternativos da produção, que vem passando, por diversas mudanças nas técnicas de industrialização voltadas ao processo produtivo dos ervais. Diante disso, os produtores têm buscado cada vez mais a implantação e/ou renovação dos ervais, de modo, a obter matéria-prima para as indústrias, em prol, de atender o mercado interno e externo (PIMENTEL, 2020).

3.2 PROPAGAÇÃO VEGETATIVA

A propagação vegetativa consiste em multiplicar assexuadamente indivíduos utilizando partes de plantas, como, órgãos, tecidos ou células, dando origem a indivíduos geneticamente idênticos a planta fornecedora dos propágulos (WENDLING; BRONDANI, 2015; SOMAVILLA, 2018). Esta forma de produção de plantas ocorre devido à totipotência celular, na qual uma única célula possui todas as informações morfogênicas necessárias para regeneração do indivíduo (HEBERLE, 2010; XAVIER et al., 2013).

Além disso, a propagação vegetativa de plantas pode ocorrer tanto em forma natural ou induzida. A naturalmente ocorre à multiplicação dos indivíduos por estruturas próprias da planta, como, por exemplo, caules, folhas, rizomas, bulbos, tubérculos e brotos, os quais têm a habilidade e a capacidade de desenvolver raízes adventícias (HARTAMANN et al., 2011).

Já a induzida são técnicas reprodutivas vegetativas artificiais, ou seja, são métodos utilizados com a intervenção humana, os quais se configuram dentro da propagação vegetativa, que incluem os processos de corte, estratificação, enxerto, secção e cultura de tecidos, como, por exemplo, os métodos de estaquia, enxertia, alporquia (PEIXOTO, 2017). No entanto, estas formas de produção de plantas são utilizadas, em prol, de propagar indivíduos com características geneticamente superiores (WENDLING; BRONDANI, 2015).

Xavier et al. (2013) ressalta que a propagação vegetativa para espécies arbóreas é uma ferramenta importantíssima para formação de povoamentos clonais que visam alta produtividade e uniformidade dos plantios. Sendo que, as principais vantagens dessa técnica em espécies florestais são: plantios clonais com alta uniformidade e produtividade; produção de clones de alta qualidade; qualidade da madeira e de seus produtos e subprodutos, como

também a multiplicação de indivíduos resistentes a doenças e pragas, entre outros (XAVIER et al.; KOZEN et al., 2018).

Diante desse contexto, os autores comentam que a propagação em espécies florestais ainda é feita em grande parte por cultivo seminal, principalmente pela ausência de estudos e informações que subsidiem a propagação vegetativa (DIAS et al., 2012). No entanto, na silvicultura comercial, a propagação vegetativa vem sendo aprimorada diante dos resultados promissores e significativos para o melhoramento genético de plantas superiores, de modo, a resultar formação de povoamentos mais homogêneos e produtivos em relação às características tecnológicas e silviculturais (XAVIER et al., 2013).

De modo geral, a propagação vegetativa é uma das técnicas mais utilizadas em nível mundial, principalmente, pelos programas de melhoramento genético para reduzir os problemas de baixa germinação e viabilidade de plântulas, sendo, de suma importância para produção de mudas, de forma a permitir o crescimento da silvicultura clonal de forma intensiva em diversas partes do mundo (WENDLING; BRONDANI, 2015). Visto que, as técnicas mais utilizadas no setor florestal para produção de mudas são a estaquia e a miniestaquia, especialmente, pelo conhecimento técnico e científico avançado (ALFENAS et al., 2009).

Segundo Ferreira et al. (2004), a miniestaquia é utilizada praticamente na maioria das empresas florestais, principalmente, pelas vantagens de operação que essa técnica apresenta, e também pelo menor custo de implementação e manutenção. Ainda, Borges et al. (2011) ressalta que a miniestaquia mostra ganhos relativamente importantes quanto ao tempo de formação de muda, que é reduzida, além de apresentar aumento nas taxas de enraizamento adventício.

Além disso, a miniestaquia em espécies florestais também foi estudada por vários autores, principalmente para driblar as dificuldades de enraizamento, em prol de maximizar o processo de produção de mudas, como trabalhos em diferentes táxons como *Eucalyptus* (XAVIER et al., 2013; MODENEZI, 2019), *Araucaria angustifolia* (PIRES et al., 2013), *Cabralea canjerana* (GIMENES et al., 2015, BURIN et al., 2018), *Mimosa caesalpinifolia* (FREIRE, 2020), entre outros dentre os quais se inclui *Acacia mearnsii* (DUIN et al., 2015; ENGEL et al., 2016; IKEDA et al., 2019; SÁ et al., 2020; AVINIO, 2021) e a *Ilex paraguariensis* (BRONDANI et al., 2008; PIMENTEL et al., 2017; SÁ et al., 2018; GAZZANA, 2019)

Portanto, o sucesso da propagação vegetativa é influenciado diretamente e indiretamente por diversos fatores intrínsecos (material vegetativo) e extrínsecos (ambiente),

que estão associados ao enraizamento, dentre eles: a facilidade ou não de enraizar (depende da espécie e até mesmo genótipo), o estágio fisiológico da planta mãe, balanço hormonal, juvenilidade e a idade da planta mãe, os tipos de estacas, as estações do ano, temperatura, luz e umidade (ONO; RODRIGUES, 1996; WENDLING, 2004; BRONDANI et al., 2018; VILASBOA et al., 2019). Para silvicultura essa técnica apresenta outras vantagens, como, na economia, produção em larga escala, rapidez e fixação de genótipos selecionados (HARTEMANN et al., 2011).

Desse modo, em plantios de acácia-negra e erva-mate, a propagação vegetativa é uma alternativa para a obtenção de indivíduos com características de genética superiores, por meio da seleção de clones (ELDRIDGE et al., 1994, SILVA et al., 2007). Contudo, o cultivo da acácia e de erva-mate ainda é predominantemente realizado a partir de mudas seminais, o que ocasiona em desuniformidade, heterogeneidade entre plantas, além de apresentar baixa produtividade em povoamentos (WENDLING, 2004; SÁ et al., 2020). Portanto, ressalta-se a importância da ampliação dos estudos voltados ao enraizamento adventício, assim como, de protocolos eficazes e economicamente viáveis para produção comercial de produção de mudas da acácia-negra e da erva-mate.

3.3 DESCRIÇÃO GERAL DO CAULE

O caule é um órgão vegetativo responsável pela sustentação da parte aérea, como também, apresenta importância na translocação de fotoassimilados, hormônios e nutrientes, e no acúmulo de reserva, essas são algumas das importantes funções e características essenciais desse órgão na planta (NETO, 2019).

Em relação à estrutura anatômica geral, o caule é formado por tecidos do sistema de revestimento, fundamental e vascular, os quais têm sua origem nos meristemas primários protoderme, meristema fundamental e procâmbio (CORTEZ et al., 2016). Nas dicotiledôneas a organização do caule de crescimento primário é constituída por epiderme, córtex, floema, xilema e medula (ESAU, 1977; OLIVEIRA, 2011), já no crescimento secundário a formação caulinar se dá pela atividade dos câmbios da casca e vascular (APPEZZATO DA GLÓRIA et al., 2003).

Caules primários geralmente são delimitados por células da epiderme, podendo conter uma ou mais camada de células. Além disso, na epiderme podem ser visualizadas células especializadas (tricomas e estômatos), internamente a essa camada, tem-se os tecidos corticais que podem apresentar de poucas a várias camadas de células, cuja diversidade estrutural lhes

irão atribuir características de parênquima, colênquima e/ou esclerênquima (CORTEZ et al., 2016). O limite externo é identificado pela exoderme, enquanto, o limite interno, tem-se a endoderme, podendo ser identificada como bainha amilífera, e, mais internamente da célula, se diferencia a região do cilindro vascular, que é formado por tecidos do xilema e floema, arranjados em forma de feixes vasculares. E por fim a região medular que é constituída normalmente por parênquima, e está localizada bem ao centro da célula (CORTEZ et al., 2016).

Já a estrutura de caules secundários é organizada pela atividade cambial, tecidos vasculares secundários, felogênio e periderme. A formação da periderme ocorre internamente à epiderme, o córtex pode estar ou não presente, dependendo do local em que o felogênio se encontra, seguido pelo floema primário, com fibras ou esclereides, floema secundário, câmbio vascular, xilema secundário e primário, e a medula. (APPEZZATO DA GLÓRIA et al., 2003; CORTEZ et al., 2016).

3.4 ENRAIZAMENTO ADVENTÍCIO

O enraizamento adventício de estacas é um processo complexo e peculiar, e o seu sucesso pode ser afetado por vários fatores como o estresse por dano mecânico, a perda de influências correlativas devido à separação das partes aérea e radicular (de origem), mudanças nas relações hídricas nas plantas, pelas quais, são reguladas pelas interações de múltiplos fatores, dentre estes, os carboidratos, compostos fenólicos, fitormônios, como também, as características genéticas, o estado fisiológico da planta-mãe (HAISSIG, 1982), os aminoácidos e as substâncias nitrogenadas (HARTMMANN et al., 2011).

Segundo Xavier et al. (2013), o enraizamento adventício na propagação vegetativa envolve o redirecionamento do desenvolvimento de células vegetais totipotentes à formação de meristemas para a formação de uma raiz, ou seja, um novo sistema radicular. De acordo com os autores, esse novo sistema radicular é denominado adventício, sendo que cada nova raiz formada na estaca, constitui-se em uma raiz adventícia, que foi induzida pelo trajeto diferente de onde se forma a raiz normal (XAVIER et al., 2013).

Em relação ao processo de rizogênese adventícia, há variabilidade quando são comparadas espécies ou cultivares, variação em função da idade do material, ou até mesmo com a parte utilizada do material como estaca. Quanto à origem, o estímulo pode se dar em células epidérmicas ou cambiais, do cilindro vascular incluindo periciclo ou do floema secundário, na região cortical (ONO; RODRIGUES, 1996; ESAU, 1977; APPEZZATO DA

GLÓRIA et al., 2003), como também nas proximidades do tecido vascular diferenciado, próximo ou na base das estacas, assim como também em regiões embrionárias ou de crescimento que ocorrem em regiões do tecido vasculares.

Na concepção de Hartmann et al. (2018), o enraizamento adventício consiste em quatro fases de desenvolvimento: a desdiferenciação celular, ou seja, a capacidade que as células já diferenciadas têm de formar um novo ponto meristemático de crescimento; as raízes iniciais, ainda não perceptíveis; os primórdios de raiz, já visíveis, proporcionando o crescimento radicular; e o crescimento e a emergência das raízes, promovendo a sustentação da nova planta.

O enraizamento adventício pode seguir padrões anatômicos diretos e indiretos (GENEVE, 1991; ALMEIDA et al, 2017). A rizogênese direta ocorre após a indução das células competentes, iniciando divisões celulares junto ao câmbio vascular, e a diferenciação de primórdios radiculares em contato direto ou muito próximo a região vascular original (COSTA et al., 2013). Por sua vez, no enraizamento indireto, as células não respondem ao sinal de indução, ocorrendo divisões celulares não dirigidas, formando calos, que posteriormente sofrerão uma nova indução e, assim, estabelecer o primórdio da raiz (HARTMANN et al., 2011).

3.5 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA DO ENRAIZAMENTO ADVENTÍCIO

Nas angiospermas as raízes adventícias são oriundas do tecido do periciclo, embora a endoderme, tecidos corticais e parênquima vascular também possam estar presentes na morfogênese de primórdios radiculares, como ocorre com as raízes laterais (TORRES-MARTÍNEZ et al., 2019).

Assim, a origem dos primórdios radiculares pode ser de células cambiais ou da desdiferenciação celular de células corticais parenquimáticas em sinalização ao ferimento que é submetido nas estacas (JESUS et al., 2010), isso significa, que a formação das raízes adventícias dá-se entorno ao ferimento produzido pelo corte durante a confecção da estaca (FACHINELLO et al., 2005).

Em relação à formação e ao desenvolvimento, as raízes adventícias, normalmente são endógenas, onde se formam juntamente com os tecidos vasculares, e vão desenvolvendo-se através de tecidos situados ao redor do seu ponto de origem (HARTMANN et al., 2011), semelhante ao processo de iniciação das raízes laterais (PALLARDY, 2008).

Atualmente, por meio de estudos histológicos e fisiológicos, entende-se que a

rizogênese adventícia é um processo com diferentes fases, e que cada etapa do processo tem suas particularidades (PROFIRIO et al., 2016), desse modo, são divididas em três fases: a indução, iniciação e expressão (PACURAR et al., 2014; ZHANG et al., 2017).

De acordo com Guan et al. (2019), na fase de indução ocorre a formação de células iniciais provenientes da desdiferenciação células no periciclo ou no câmbio, que varia conforme a espécie e o estágio de desenvolvimento do caule; já a fase de iniciação, é quando as células meristemáticas dos primórdios dividem-se e diferenciam-se em camadas de tecidos radiculares; e a de expressão, que é representada pela raiz emergindo, ou seja, a formação da nova raiz.

Desse modo, os primórdios de raízes adventícias podem ser formados em diferentes tecidos da planta, como por exemplo, em tecidos vasculares (*Acacia mangium*) (AHMAD, 1989), *Coffea arabica* L. (JESUS et al., 2010), tecido cortical (*Acca sellowiana*) (ROSS et al., 2021), câmbio vascular (*Corymbia torelliana* e *Eucalyptus camaldulensis*) (BRYANT; TRUEMAN, 2015), calo cortical (*Acacia baileyana* F. Muell) (SCHWARZ et al., 1999), periferia do floema (*Odontonema strictum* Kuntze) (ZUFFELLATO-RIBAS et al., 2005), região interna e externa do floema (*Calliandra brevipes* e *Calliandra tweedii*) (MAYER et al., 2008), ou ainda em vários tecidos como a espécie *Platyclus orientalis* (LIU et al., 2021) que originaram-se de calo, xilema, floema, câmbio vascular, córtex e medula ou zona perimedular.

Sendo assim, a origem dos primórdios radiculares adventícios em estacas caulinares é muito variável. Portanto, conforme já mencionado, há variação entre as espécies, como também, o tipo de propágulo. Assim, a rediferenciação celular pode acontecer a partir de tecidos subepidérmicos, feixes vasculares, córtex, floema secundário, câmbio e periciclo (MACEDO et al., 2013).

Frente aos interesses da produção neste contexto, cabe salientar que alguns estudos registraram o aumento na porcentagem de enraizamento adventício em estacas onde os primórdios radiculares tem origem no câmbio ou em células adjacentes (STEFFENS; RASMUSSEN, 2016).

As restrições das raízes adventícias podem advir de obstruções por bandas de esclerênquima, como também, de secreção, canais de resina, ou ainda, pode ser por volumes grandes de tecidos vasculares induzidos (BEAKBEANE, 1969; LOVELL; WHITE, 1984). Há trabalhos que relatam que o anel esclerenquimático agindo conjuntamente com influências químicas pode vim intervir no processo de rizogênese adventícia (SACHS; THIMANN, 1964; HARTMANN et al., 2011; BASTOS, 2005), ainda que o enraizamento adventício seja uma

resposta química, a diminuição na proporção entre tecidos do esclerênquima e do parênquima pode sim proporcionar condições que possibilite a formação de raízes adventícias (MEDRADO et al., 1995).

Outros estudos mostram que a presença dessa barreira esclerenquimatosa descontínua não interfere no processo da rizogênese, até mesmo não possuem nenhuma relação com o enraizamento adventício, pois, aparentemente não está associada a uma barreira anatômica, pois as fibras perivasculares não atuam como obstáculo à rizogênese (PIMENTEL et al., 2020, SOUSA et al., 2022). Ainda, Jofré et al. (2016) ressalta que durante o processo de enraizamento adventício há alterações histológicas permeando por alterações bioquímicas, como a ação de compostos fenólicos, auxinas, enzimas oxidativas, entre outras, pelas quais, contribuem para melhor compreensão destes fatores no desenvolvimentos de raízes adventícias.

Em alguns estudos científicos foi demonstrado que a ação de auxinas, conjugada com cofatores, como os compostos fenólicos, pode auxiliar na estimulação ou inibição do enraizamento adventício (CRISTOFORI et al., 2010; PIMENTA et al., 2017). Os compostos fenólicos são metabólitos importantíssimos para as plantas, pois, eles atuam na nutrição celular, e também, são essenciais para a sobrevivência dos organismos vegetais, além de, proteger as plantas da oxidação e da radiação (CHENIANY et al., 2010; GANI; SHAMA; 2021).

Na literatura é bem limitado o nível de informação e de pesquisas, que esclarecem a ação de atuação das vias de sinalização, como, a resposta de feridas e estresse, metabolismo hormonal vegetal, metabolismo de carboidratos e energia, e de como, esses mecanismos são traduzidos no comportamento e no desenvolvimento celular, ou seja, como ocorrem essas sinalizações no ciclo celular e na dinâmica celular, juntamente com a regulação transicional em relação à competência de enraizamento adventício em espécies arbóreas (PIZARRO, 2019; DÍAZ-SALA; 2019).

No entanto, há outros fatores que também são importantes na compreensão desses mecanismos, de modo, em que as células se diferenciem e se desenvolvam em células meristemáticas, pois, todas as dinâmicas de mudança de destino da célula no período da formação do enraizamento adventício resultam em interações, como os efeitos dos sinais estruturais e espaço/temporal na formação celular e tecidual durante a o processo da rizogênese, como também, a ação e atuação de hormônios (auxinas), a mudança regulatória entre a expressão gênica e a uniformização do órgão, acumulação de carboidratos gerados na fotossíntese (grãos de amidos), entre outros fatores, que levam desde a indução até a raiz

adventícia funcional (HAISSIG, 1982; VILASBOA et al., 2019; DÍAZ-SALA; 2020).

Desse modo, salienta-se a importância de estudos anatômicos por meio da histologia e da microscopia para a caracterização da formação e do desenvolvimento do enraizamento adventício, ampliando assim o conhecimento da estrutura interna do caule e da raiz adventícia, de modo, a promover uma melhor compreensão do processo de formação dos primórdios radiculares, sendo que os mesmos podem apresentar diferença quanto às origens histológicas (JESUS et al., 2010).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGEFLOR. ASSOCIAÇÃO GAÚCHA DE EMPRESAS FLORESTAIS. 2019. Disponível em: <<http://www.ageflor.com.br/noticias/mercado/tanac-e-pioneira-na-certificacao-de-grupo-de-plantacoes-no-rs>> Acesso em: 10 Mar. 2023.
- AGEFLOR. ASSOCIAÇÃO GAÚCHA DE EMPRESAS FLORESTAIS. 2020. Disponível em: <http://www.ageflor.com.br/noticias/biblioteca/mapas-o-setor-de-base-florestal-no-rio-grande-do-sul-2020-ano-base-2019/attachment/total_acacia_ha_municipio-web-2>. Acesso 04 Out. 2021.
- AHMAD, Darus. Haji., Anatomical study on root formation in *Acacia mangium* stem cuttings. **Journal of Tropical Forest Science**. p. 20-24. 1989.
- ARAÚJO, M. M.; NAVROSKU, M. C.; SCHORN, L. A. Produção de sementes e mudas: um enfoque à silvicultura. Santa Maria: Editora UFSM, 2018. v. 1, p. 448, 2018.
- APPEZZATO, Da Glória, B.; HAYASHI, A.H. RAIZ. IN: APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO GUERREIRO, S.M. **Anatomia vegetal**. UFV. Viçosa, Minas Gerais. p.438, 2003.
- AVINIO, Renata. Smith. Competência ao enraizamento adventício de miniestacas de *Acacia mearnsii* De Wild. 2021. 88p. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Florestal). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2021.
- BASTOS, D. C.; SCARPARE FILHO, J. A.; FATINANSI, J. C.; PIO, R. Estiolamento, incisão na base da estaca e uso de AIB no enraizamento de estacas herbáceas de caramboleira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP, v.27, n.2, p.281-284, 2005.
- BARRETTO, V. C. M. *et al* Eficiência de uso de boro no crescimento de clones de eucalipto em vasos. **Revista Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 76, n. 1, p. 21-33, dez. 2007.
- BARICHELLO, Leonir, Rodrigues. Quantificação da biomassa e dos nutrientes em floresta de *Acacia mearnsii* De. Wild. na região sul do Brasil. 2003. 74p. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Florestal). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.
- BEAKBANE, A. Beryl. Relationships between structure and adventitious rooting. International Plant Propagators' Society, Combined Proceedings, v.19, p. 192-201, 1969.
- BELLINI, C., PACURAR, D. I., AND PERRONE, I. Adventitious roots and lateral roots: similarities and differences. **Annu. Rev. Plant Biol.** v. 65, p.639–666. 2014. DOI: 10.1146/ANNUREV-ARPLANT-050213-035645
- BOLAND, Douglas. J. et al. **Forest trees of Australia**. Melbourne: Thomas Nelson/CSIRO, p. 687, 1984.
- BONFANTI JUNIOR, E. A.; LENGOWSKI, E. C. LUDKA JUNIOR, A. Mapeamento do processo produtivo de erva-mate. **Revista Internacional de Ciências**, v. 08, n. 01, p. 82-98, 2018.

BORGES, S. R. *et al.* Enraizamento de miniestacas de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*. **Revista Árvore**, v. 35, n. 3, p. 425-434, 2011.

BRACESCO, N. *et al.* Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: Minireview. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, p. 378-384, 2011.

BRITO, F. C. *et al.* **Estágios de maturação dos frutos de erva-mate, *Ilex paraguariensis***. Comunicado Técnico 433, 2019. 10 p.

BRONDANI, G. E. *et al.* Miniestaquia de *Eucalyptus benthamii* x *Eucalyptus dunnii*: (I) sobrevivência de minicepas e produção de miniestacas em função das coletas e estações do ano. **Ciência Florestal**, v. 22, n. 1, p. 11-21, 2012. DOI: <https://doi.org/10.5902/198050985075>

BRONDANI, Gilvano E., *et al.* Mini-incubators improve the adventitious rooting performance of *Corymbia* and *Eucalyptus* microcuttings according to the environment in which they are conditioned. **Anais Academia Brasileira Ciência** v. 90, p. 2409–2423, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720170284>

BRUXEL, Fernanda. *et al.* Taxonomia, descrição e distribuição geográfica de *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil. p. 13. 2018. Disponível em: < https://www.univates.br/editora-univates/media/publicacoes/259/pdf_259.pdf>. Acesso em: 25 Marc. 2023.

BURIN, Claudia. *et al.* F.Enraizamento de miniestacas em diferentes épocas de coleta para a seleção de clones decanjerana. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.13, n.2, p. 1-7, 2018.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. 1. Ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, 2003. 1039 p.

CECONI, D. E. *et al.* Biomassa e comprimento de raízes dinas em povoamento de acacia mearnsii de wild. estabelecimento em área degradado por mineração de cravão. **Floresta**, v. 38, n. 1, 2008.

COSTA, Cibele T. Da. *et al.* When stress and development go hand in hand: main hormonal controls of adventitious rooting in cuttings. **Frontiers in Plant Science**, v.4,n.133, 2013.

CRISTOFORI, V.; ROUPHAEL Y.; RUGINI E. Collection time, cutting age, IBA and putrescine effects on root formation in *Corylus avellana* L. cuttings. **Sci Hortic.** v.124, p.189–194. 2010.

CHEN, Chunxia, *et al.* Cellulose (dissolving pulp) manufacturing processes and properties: A mini-review. **BioResources**. v.11, n.2, p.5553-5564, 2016.

CHENIANY, Monireh *et al.* Effect of endogenous phenols and some antioxidant enzymatic activities on persian walnut rooting (*Juglans regia*EU.). **Afr J Plant Sci**. v. 4, n.12, p. 479-487, 2010.

CORTEZ P. A.; SILVA, D. C.; CHAVES; A. L. F. Manual prático de morfologia e anatomia

- vegetal / Priscila Andressa Cortez, Delmira da Costa Silva, Alba Lucilvânia Fonseca Chaves. - Ilhéus, BA: **Editus**, p. 92, 2016.
- COSTA, M.G. *et al.* Leguminosas arbóreas para recuperação de áreas degradadas com pastagem em Conceição de Macabu, Rio de Janeiro, Brasil. **Scientia Forestalis**, v.42, n.101, p.101-112, 2014.
- DALLABRIDA, V. R. *et al.* Com erva-mate não se faz só chimarrão! Situação atual e perspectivas de inovação no setor ervateiro do planalto norte catarinense. **Desenvolvimento Regional em debate**, v. 6, n. 2, p. 247-273, 2016.
- DANIEL, O. **Erva-mate**: sistema de produção e processamento industrial. Dourados: UFGD/UEMS. 2009.
- DE ALMEIDA, M.R. *et al.* Environmental control of adventitious rooting in *Eucalyptus* and *Populus* cuttings. *Trees*, v. 31, p. 1377–1390, 2017.
- DIAS, P. C.; OLIVEIRA, L. S. DE O.; XAVIER, A.; WENDLING, I. Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 32, n. 72, p. 453-462, 2012.
- DÍAZ-SALA, Carmen. Molecular Dissection of the Regenerative Capacity of Forest Tree Species: Special Focus on Conifers. *Front. Plant Sci.* v. 9, p. 1943, 2019.
- DÍAZ-SALA, Carmen. A Perspective on Adventitious Root Formation in Tree Species. *Plants*. v.9, n.12, p.1789, 2020. Doi: <https://doi.org/10.3390/plants9121789>
- DUIN, I. M.; COELHO, T. A. V.; POITEIN, C. G. Identificação de Fungos Endofíticos em estacas de acácia-negra. v.44, n.3, p.278-280. 2015.
- ELDRIDGE, K.; DAVIDSON, J.; HARWOOD, C. Y WYK, G. Eucalypt domestication and breeding. Oxford Science Publications. **Oxford**, England. p. 287, 1994.
- EMBRAPA. Sistema brasileiro de classificação de solos. 3 ed. Rio de Janeiro: **Embrapa** – Centro Nacional de Pesquisa de Solos, p. 353, 2013.
- EMBRAPA. Cultivo da erva-mate. Sistemas de produção, v.1. Colombo: **Embrapa** – Centro Nacional de Pesquisas de Florestas, 2018.
- ENGEL, Mara Luana. *et al.* Indução de brotações em matrizes de *Acacia mearnsii* De Wildeman em relação a idades e quatro estações do ano. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 47, n. 122, p. 235-244, jun. 2019. DOI: doi.org/10.18671/scifor.v47n122.06
- ESAU, K. **Plant anatomy**. 2. ed. New York: J. Wiley, p.69, 1977.
- FAO. Food and agriculture organization. **FAOSTAT: crops and livestock products**, 2019.
- FARIA, J. C. T. *et al.* Manejo da densidade de plantas durante a produção de mudas em viveiro. **Ciência Florestal**, v. 29, 3 ed, 2019. DOI: <https://doi.org/10.5902/1980509830030>

- FERLA, N. J. *et al.* **A cultura da erva-mate e os ácaros:** situação atual e perspectivas. Editora Evangraf. Porto Alegre, ed. 1, p. 168. 2018. Disponível em: <https://www.univates.br/editora-univates/media/publicacoes/259/pdf_259.pdf> Acesso em: 01 Marc. 2023.
- FERREIRA, E. M. *et al.* Determinação do tempo ótimo do enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus* spp. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 28, n. 2, p. 183-187, 2004.
- FERRON, R. Erva-mate: muito mais que a árvore símbolo do RS. **Conselho em Revista**, n. 40, p. 32, 2013.
- FLEIG, F. D. Análise econômica dos sistemas de produção com Acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.) no Rio Grande do Sul. 1993. 104 p. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Florestal). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1993.
- FREIRE, Álvaro Da Costa. Propagação vegetativa de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. por miniestaquia e análise morfoanatômica do enraizamento adventício. 2020. p. 110. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Florestais) - Escola Agrícola de Jundiá, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2020.
- FOELKEL, C. E. B. Os eucaliptos e as leguminosas: *Acacia mearnsii*. **Eucalyptus online Book e Newsletter**, 2008. Disponível em: <http://www.eucalyptus.com.br/capitulos/PT08_leguminosas.pdf>. Acesso em: 15 Out. 2019.
- GANI, M. A.; SHAMA, M. Phenolic Compounds. Bioactive Compounds - Biosynthesis, Characterization and Applications. Leila Queiroz Zepka, Tatiele Casagrande do Nascimento and Eduardo Jacob-Lopes, IntechOpen, 2021. DOI: 10.5772/intechopen.96740. Disponível em: <<https://www.intechopen.com/chapters/76405>> Acesso em: 12 Nov. 2021
- GELSLEICHTER, Samara. D. Absorção de zinco pela erva-mate (*Ilex paraguariensis*). 2020. p. 36. **Dissertação** (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2020.
- GENEVE, R. L. Patterns of adventitious root formation in english ivy. **Journal of Plant Grow**. v.10, p. 215-220, 1991.
- GERHARDT, M. **História ambiental da erva-mate**. 2013. 290 p. Tese (Doutorado em história) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil, 2013.
- GIMENES, Eliseo S. *et al.* Propagation of *Cabralea canjerana* by mini-cutting. **Journal of Horticulture and Forestry**, v.7, n.1, p. 8-15, 2015.
- GRASEL, F. S.; MARCELO, M. C. A.; FERRÃO, M. F. Development of an inexpensive, practical and non-destructive methodology based on digital images from a scanner for the classification of commercial tannins from *Acacia mearnsii*. **Analytical Methods**, v. 9, n. 26, p. 3977–3982, 2017.
- GRIFFIN, A.R. *et al.* **Global uses of Australian acacias** – recent trends and future prospects. *Diversity and Distributions*, v.17, p. 837-847, 2011.

GROPPO, M. Aquifoliaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. 2015. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=F B50>> Acesso em: 9 Jul. 2022

GUAN, L. *et al.* Auxin regulates adventitious root formation in tomato cuttings. **Plant Biology**, 2019.

HAISSIG, B. E. Metabolism during adventitious root primordium and development. New Zeland. **Forest Science**, v. 4, p. 324-337, 1974.

HAISSIG, B.E. Carbohydrate and amino acid concentrations during adventitious root primordium development in *Pinus baksiana* (Lam.) cuttings. **Forest Science**, v.28, n. 4, p.813-821, 1982.

HARTMANN, H. T. *et al.* **Plant propagation: principles and practices**. 8 ed. New Jersey: Prentice Hall, p. 915, 2011.

HIGA, A. R. *et al.* Resistencia a heladas em procedencias de *Acacia mearnsii* De Wild plantadas en Rio Grande do Sul, Brasil. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO, 1., 1998, Valdivia, **Proceedings** Valdivia: IUFRO, 1998. 1 CD-ROM.

HIGA, R. C. V. *et al.* Acácia-negra. In: José Eduardo B.A. Monteiro. (Org.). **Agrometeorologia dos Cultivos**. 1 ed. Brasília: Inmet, v. 1, p. 311-319, 2009.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Biblioteca. **Produção da extração vegetal e da silvicultura**, 2017. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9105-producao-da-extracao-vegetal-e-da-silvicultura.html?edicao=29153&t=resultados>> Acesso em: 22 de fev. 2023.

IKEDA, A. C. *et al.* Efeito de iba e de rizobactéria no enraizamento de miniestacas de acácia negra. **Colloquium agrariae**. ISSN: 1809-8215, 15(6), 47–54. 2019. Disponível em: <<HTTPS://REVISTAS.UNOESTE.BR/INDEX.PHP/CA/ARTICLE/VIEW/2739>>. Acesso em: 23 Nov. 2021.

ISFENDIYAROGLU, M. Anatomical study of adventitious root development in mastic tree (*Pistacia lentiscus* l. Var. Cha duham.) cuttings. **Propagation of Ornamental Plants**. Vol. 21, n° 2, p. 52-57, 2021.

JESUS, A.M.S.; CARVALHO, S. P.; CASTRO, E. M.; GOMES, C.N.; Observações anatômicas em plantas de *Coffea arábica* L. obtidas por enraizamento de estacas. **Revista Ceres**, v. 57, n. 2, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0034737X2010000200006>

JOFRÉ, M.; RÍOS, D.; BECERRA, J. Y.; SÁNCHEZ-OLATE, M. Caracterización fisiológica del enraizamiento in vitro de *Eucalyptus nitens* y *Eucalyptus globulus*. **Gayana Botanica** v.73, n. 2, p.421-429. 2016.

KANNEGIESSER, U. Apuntes sobre algunas acacias australianas: 1. *Acacia mearnsii* De Willd. **Ciencia e Investigación Forestal**, v. 4, n. 2, p. 198-212, 1990.

KONZEN, E. R.; BERGONCI, T.; BRONDANI, G. E. Produção de mudas por propagação vegetativa. In: Produção de sementes e mudas: um enfoque a silvicultura. 1st ed. UFSM: Santa Maria, p. 215–235, 2018.

KRISNAWATI, H.; KALLIO, M.; KANNINEN, M. *Acacia mangium* Willd.: ecology, silviculture and productivity. Bogor: CIFOR, 2011. Disponível em: <https://www.cifor.org/knowledge/publication/3392/>. Acesso em: 06 jun. 2021.

LEGUE, Valerie, *et al.* Adventitious root formation in tree species: involvement of transcription factors. *Physiologia Plantarum*. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/ppl.12197>

LIU, G. *et al.* Histological dissection of cutting-inducible adventitious rooting in *Platyclusus orientalis* reveals developmental endogenous hormonal homeostasis. **Industrial Crops and Products**. ELSEVIER. v. 170. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113817>

LORENZI, H.; SOUZA, H.; M; TORRES, M. A. V.; BACHER, L. B. Árvores exóticas no Brasil: madeireiras, ornamentais e aromáticas. Nova Odessa: **Instituto Plantarum**, 2003.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, v. 1, 2008. 384 p.

LOVELL P. H.; WHITE J. Anatomical changes during adventitious root formation. In: Jackson M. B. (Ed.). *New root formation in plants and cuttings*. **Springer**, Dordrecht, The Netherlands: 111-141. 1986.

MACEDO, E. *et al.* Adventitious root formation in olive (*Olea europaea* L.) microshoots: anatomical evaluation and associated biochemical changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 88, n. 1, p. 53–59, 2013.

MARIATH, J. E. A. *et al.* Aspectos anatômicos e embriológicos em espécies do gênero *Ilex*. In: WINGE, H.; FERREIRA, A. G.; MARIATH, J. E. A.; TARASCONI, L. C. (Org). *Ervamate: biologia e cultura no Cone Sul*, **Anais...** Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, p. 263-280, 1995.

MEDRADO, M. S. J.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; COSTA, J. D Alterações anatômicas em estacas de seringueira (*Hevea brasiliensis* clone RRIM 600) em resposta a diferentes técnicas de indução de enraizamento. *Scientia Agrícola*, v. 52, n. 1, p. 89-95, 1995.

MEDRADO, M. J. S.; DALZOTO, D. N.; OLIZESKI, A.; MOSELE, S. H. Recuperação de ervais degradados. 2002, 6 p. Colombo: **Embrapa Florestas** (Embrapa Florestas, Comunicado Técnico, 86), 2002.

MORA, A. L. Aumento da produção de sementes geneticamente melhoradas de *Acacia mearnsii* De Wild. (Acácia-negra) no Rio Grande do Sul. 2002. 140 p. **Tese** (Doutorado em Ciência Florestal), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

NETO, S. E. *et al.* Enraizamento do caule de muda alta de maracujazeiro amarelo para plantio profundo. **Applied Research e Agrotechnology**, Guarapuava-PR, v.13: e6186, 2020. DOI:

10.5935/PAeT.V13.e6186

OLIVEIRA, L. M. *et al.* Propagação vegetativa de *Hyptis leucocephala* Mart. ex Benth. e *Hyptis platanifolia* Mart. ex Benth. (Lamiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.13, n.1, p.73-78, 2011.

ONO, E. O., RODRIGUES, J. D. Aspectos da Fisiologia do Enraizamento de Estacas Caulinares. **Jaboticabal: FUNEP**, p. 83, 1996.

REMADE, **Revista da Madeira**. Acácia pode ser cortada com cinco anos. n 89, 2005.

Disponível em:

<remade.com.br/br/revistadamadeira_materia.php?num=729&subject=Esp%E9cieAc%E1cia &title=Ac%E1cia%20pode%20ser%20cortada%20com%20cinco%20an>. Acesso em: 15 Abr. 2020.

SAUERESSIG, D. **Plantas do Brasil: árvores nativas**. Irati: Editora Plantas do Brasil. 2014.

SOUSA, C. E. De; OLIVEIRA, F. L. R.; SANTOS, B. F. S.; RIBAS, K. C. Z. Physiological and anatomical aspects of the rooting of *Brunfelsia pauciflora* cuttings, **Scientia Horticulturae**, v. 307, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111491>.

PACURAR, D.I.; PERRONE I.; BELLINI C. Auxin is a central player in the hormone cross-talks that control adventitious rooting. **Physiol plant**. v. 151(1), p. 83–96, 2014. DOI: [HTTPS://DOI.ORG/10.1111/PPL.12171](https://doi.org/10.1111/PPL.12171)

PALLARDY, S. G., *Physiology of Woody Plants (Third Edition)*. p. 9-38. 2008

PASA, D. L. Caracterização fundiária e dimensionamento de florestas de *Acacia mearnsii* De Wild. na metade Sul do Rio Grande do Sul. 2018. p. 82. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Florestal). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2018.

PIMENTA, A. C. *et al.*, Estaquia e anatomia caulinar de *Annona crassiflora* Mart. **Caderno Ciência Agrárias**, v. 9, n. 2, p. 01-07, ISSN 2447-6218. 2017

PIMENTEL, Nathalia. *et al.* Anatomical Characterization of the Adventitious Roots of Mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) Mini-cuttings. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. p.63, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2020190359>

PIMENTAL, Nathalia. Enraizamento de miniestacas e qualidade de mudas de *Ilex paraguariensis* A. St. -Hil. 2020. p. 151. **Tese** (Doutorado em Engenharia Florestal). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2020.

PIRES, P. P.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. Ácido indolbutírico e ortotropismo na miniestaquia de *Araucaria angustifolia*. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.37, n.3, p.393-399, 2013.

PIRES, E. Z. *et al.* Biologia reprodutiva de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) em remanescente de Floresta Ombrófila Mista Altomontana. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 13, n. 2, p. 171-180, 2014.

PIZARRO, A.; DÍAZ-SALA, C. Cellular dynamics during maturation-related decline of adventitious root formation in forest tree species. **Physiol. Plant.** v. 165, p.73–80, 2019.

PORFIRIO, S. *et al.* Tracking biochemical changes during adventitious root formation in olive (*Olea europaea* L.). **Scientia Horticulturae**, Évora, p. 41-53, 05 mar. 2016.

POLETTO, *et al.*, Potencial de Acácia-negra na recuperação de solo degradado pela mineração de carvão. In. REUNIÃO BRASILEIRA DE MANEJO E CONSERVAÇÃO DO SOLO E ÁGUA, 16., Aracaju, Anais...Aracaju: SBCS/UFSM, 2006. 1 CD-ROM.

ROSS, S.; SPERONI, G.; SOUZA-PÉREZ, M. *et al.* Stem-cutting anatomy and biochemical responses associated with competence for adventitious root differentiation in *Acca sellowiana* (Myrtaceae). **Trees** **35**, p.1221–1232, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00468-021-02110-1>

ROSSA, U.B. Produtividade de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) sob efeito de variação de luminosidade e adubação. 2013, p. 208. **Tese** (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

RIVEIRO, S. F.; CRUZ, Ó.; CASAL, M.; REYES, O. Fire and seed maturity drive the viability, dormancy, and germination of two invasive species: *Acacia longifolia* (Andrews) Willd. and *Acacia mearnsii* De Wild. *Annals of Forest Science*, v. 77, n. 60, 2020.

SÁ, L. C. DE; FIOR, C. S. Influência do número de folhas no enraizamento de miniestacas de acácia-negra (*Acacia mearnsii* DE Wild.). Salão UFRGS 2020: SIC – XXXII Salão de iniciação científica da UFRGS. 2020.

SACHS, T.; THIMANN, K. Release of Lateral Buds from Apical Dominance. **Nature** **201**, p. 939–940, 1964. DOI: <https://doi.org/10.1038/201939a0>

SANQUETTA, C.R. *et al.* Estoques de biomassa e carbono em povoamentos de acácia negra em diferentes idades no Rio Grande do Sul. *Scientia Forestalis*, v.42, n.103, p.361-370, 2014.

SANTOS-SEREJO, J. A. dos S; JUNGHANS, T. G.; SOARES, T. L.; SILVA, K. M. DA. Meios nutritivos para micropropagação de plantas. In SOUSA, A. da S.; JUNGHANS, T. G. (ED). Introdução à micropropagação de plantas. Cap. 7, Cruz das Almas: **EMBRAPA**, p.79-98, 2006.

SFB, **Serviço Florestal Brasileiro**. 2018. Disponível em:

<<https://www.florestal.gov.br/documentos/informacoes-florestais/inventario-florestal-nacional-ifn/resultados-ifn/3992-resultados-ifn-rs-2018/file>>. Acesso em: 21 Out. 2021.

SCHNEIDER, P. R. *et al.* Crescimento da Acácia-negra, *Acacia mearnsii* De Wild em diferentes espaçamentos. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 10, n. 2, p. 101-112. 2000. Doi: <http://dx.doi.org/10.5902/19805098484>.

SILVA, L. D. **Produção de espécies florestais alternativas: acácia, teca e paricá**. 2011. Disponível em:

<https://colheidademadeira.com.br/wpcontent/uploads/publicacoes/473/especies_florestais_alternativas_acacia_negra_teca_parica.pdf>. Acesso em: 15 Abr. 2020.

SILVA, F. B. DA; CABREIRA, M.P.; FLORIANO, E. P. Custos De Implantação, Condução E Colheita E Rentabilidade Econômica De Uma Floresta De *Acacia Mearnsii* De Wild Em Consórcio Com Melancia E Pecuária. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 2, n. 1, 2 fev. 2013.

SILVEIRA, C. S.; SCHULTZ, G. Desempenho das indústrias ervateiras do Alto Taquari/RS: uma análise com a aplicação da matriz importância – desempenho. **Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional**, v. 15, n. 7, p. 215-229, 2019.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: Guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III. 3. Ed. Nova Odessa: Plantarum, 2012.

SOUZA, G. F. et al. Efeito da estratificação em substrato esterilizado na qualidade sanitária de sementes de *Ilex paraguariensis*. **Revista Ciência Florestal**, v. 29, n. 2, p. 854-862, 2019.

STEFFENS, B.; AND RASMUSSEN, A. The physiology of adventitious roots. **Plant Physiol.** 170, 603–617. 2016. DOI: 10.1104/PP.15.01360

SUYENAGA, E. S. *et al.* Acácia-negra: potenciais usos de reaproveitamento. **Revista Conhecimento Online**, 1, 2–7. 2015. DOI: <https://doi.org/10.25112/rco.v1i0.82>

TITON, M. *et al.* dos. Efeito do AIB no enraizamento de miniestacas e microestacas de clones de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. **Revista Árvore**, Viçosa, v.27, n.1, p.1-7, 2003.

TONINI, H.; HALFELD-VIEIRA, B.; SILVA, S. J. R. *Acacia mangium*: Características e seu cultivo em Roraima, Brasília. **Embrapa Informação Tecnológica**. 2010. 145 p.

TORRES-MARTÍNEZ, H.H.*et al.*Lateral Root Primordium Morphogenesis in Angiosperms. **Front. Plant Sci.** 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00206>

UFRGS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. **Alimentus** – Alimentos e Novas Tecnologias na Ufrgs. Disponível em: <
<http://www.ufrgs.br/Alimentus/feira/mpoutro/ervante/mporegio.htm>>. Acesso em: 22 Mar. 2023.

VIERA, M. *et al.* Teores de nutrientes em povoamentos monoespecíficos e mistos de *Eucalyptus urograndis* e *Acacia mearnsii* em sistema agrossilvicultural. **Ciência Florestal**, v.23, n.1, p.67-76, 2013.

VILASBOA, J.; DA COSTA C.T.; FETT-NETO A.G. Rooting of eucalypt cuttings as a problem-solving oriented model in plant biology. **Prog Biophys Mol Biol.** 146:85–97. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2018.12.007>

WENDLING, I.; XAVIER, A. Miniestaquia seriada no rejuvenescimento de clones de *Eucalyptus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 4, p. 475- 480, 2004.

WHITE, J.; LOVELL, P.H. The anatomy of root initiation in cuttings of *Griselinia littoralis* and *Griselinia lucida*. **Annals of Botany**, London, v. 54, n.1, p. 7-20, 1984.

XAVIER, A.; SILVA, R. L. Evolução da silvicultura clonal de *Eucalyptus* no Brasil. **Agronomia Costarricense**, v. 34, n. 1, p. 93-98, jan./jun. 2010.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. da. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. 2 ed. Viçosa, MG: Ed. UFV, p. 279, 2013.

ZHANG, W. *et al.* The effects of exogenous hormones on rooting process and the activities of key enzymes of *Malus hupehensis* stem cuttings. **PLoS ONE**. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172320>

ZUFFELLATO-RIBAS, K. C *et al.*,Enraizamento e morfo-anatomia de estacas caulinares de *Odontonema strictum kuntze* (Acanthaceae). **Revista Brasileira Horticultura Ornamental**. v. 11. n.1, 2005. ISSN: 2447-536X. 2005

Os resultados e discussão deste trabalho serão apresentados em dois manuscritos, organizados como artigos originais completos, com introdução, material e métodos, resultados e discussão, e conclusões, como segue:

Capítulo I: Estudos histológicos da rizogênese adventícia de clones selecionados de *Acacia mearnsii* De Wild.

Capítulo II: Estudos histológicos em *Acacia mearnsii* De Wild. e *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. para revelar novos insights sobre as barreiras ao enraizamento adventício

4 Capítulo I

ESTUDOS HISTOLÓGICOS DA RIZOGÊNESE ADVENTÍCIA DE CLONES SELECIONADOS DA *Acacia mearnsii* DE WILD.

O presente trabalho teve como objetivo a caracterização morfoanatômica da rizogênese adventícia de miniestacas de clones de *Acacia mearnsii*. As miniestacas foram coletadas de minicepas estabelecidas em minijardim clonal, conduzido em sistema fechado de cultivo sem solo, com areia como substrato e solução nutritiva fornecida por fertirrigação. Para a caracterização histológica do processo de rizogênese das miniestacas, foram coletadas amostras teciduais dos clones aos 0, 1, 5, 10, 15 e 30 dias após o estaqueamento em casa de vegetação climatizada, para o enraizamento. As amostras foram fixadas e desidratadas em série etílicas e incluídas em metacrilato. As análises foram realizadas por meio da microscopia e histologia vegetal. O enraizamento adventício de *A. mearnsii* caracterizou-se como rizogênese indireta. Os resultados revelaram que a origem dos primórdios radiculares a partir da proliferação da região cortical, endoderme, periciclo, e dos tecidos vasculares, além da formação de uma massa de células desorganizadas (calos), estabelecendo assim, o processo rizogênico dos clones.

Palavras-chave: acácia-negra; miniestaquia; rizogênese indireta; morfoanatomia.

ABSTRACT

SELECTION AMONG AND WITHIN PROGENIES OF MATE FOR ADVENTITIOUS ROOTING

The objective of this work was the morphoanatomical characterization of adventitious rhizogenesis of minicuttings of *Acacia mearnsii* clones. Minicuttings were collected from ministumps established in a mini clonal garden, conducted in a closed cultivation system without soil, with substrate and nutrient solution provided by fertigation. For the histological characterization of the rooting process of the minicuttings, tissue samples were collected from the genotypes at 0, 1, 5, 10, 15 and 30 days after staking in an acclimatized greenhouse, for rooting. The samples were fixed and dehydrated in an ethyl alcohol series and included in methacrylate. Analyzes were performed using microscopy and plant histology. The adventitious rooting of *A. mearnsii* was characterized as indirect rhizogenesis. The results revealed that the origin of the root primordia from the proliferation of the cortical region, endodermis, pericycle, and vascular tissues, in addition to the formation of a mass of disorganized cells (calluses), thus establishing the rhizogenic process of the genotypes.

Keywords: black wattle; mini cuttings; indirect rhizogenesis; morphoanatomy.

INTRODUÇÃO

Acacia mearnsii conhecida popularmente por acácia-negra pertencente à família Fabaceae, gênero *Acacia*, é uma espécie florestal nativa das regiões do sudoeste da Austrália. No Brasil, a acacicultura concentra-se no Rio Grande do Sul, onde tem relevância econômica e social, principalmente, para os pequenos e médios produtores. Atualmente, a espécie apresenta múltiplos usos e benefícios, como, o curtimento de couros, fabricação de *pellets*, painéis de madeira, carvão, coagulantes e floculantes, matéria-prima para adesivos, tintas, resinas, entre outros (CARVALHO, 1999; LORENZI et al., 2018).

A acácia-negra apresenta importância econômica ao país, e se faz necessário à implantação de tecnologias voltadas ao estabelecimento de mudas, de modo, elevar a qualidade de produção, através de programas de melhoramento genético, com índices de baixo custo e produção em larga escala. Para isso, a propagação vegetativa através da técnica da ministaquia apresenta elevado potencial, uma vez que possibilita a multiplicação de genótipos de interesse, com alta produtividade e uniformidade, bem como pode contornar os problemas relacionados ao enraizamento de clones (XAVIER et al., 2013).

Entretanto, o sucesso e a otimização dessas tecnologias está diretamente relacionado à competência para o desenvolvimento de um sistema radicular adventício. Isso porque, a ministaquia vem proporcionando excelentes resultados, em relação aos processos de produção de mudas, bem como, uma maior produção de propágulos, em menor tempo de formação de muda em viveiros, além de, a homogeneização e padronização de povoamentos, (BRONDANI et al., 2018).

Os desafios da produção de mudas em larga escala muitas vezes pode estar atrelado à formação de raízes, que frequentemente é o principal fator limitante a clonagem de espécies (ALMEIDA et al., 2017). Neste contexto, o enraizamento adventício é um processo complexo, tanto na visão anatômica quanto fisiológica, de resposta quantitativa e regulada por diversos fatores ambientais e endógenos, os quais se correlacionam além de estarem associadas à desdiferenciação e ao redirecionamento do desenvolvimento celular, para a competência, e para formação de meristemas que originará raízes adventícias (POP et al., 2011; PACURAR et al., 2014).

Outro fator limitante ao enraizamento adventício é a presença de barreiras anatômicas (ONO; RODRIGUES, 1996), que podem afetar na redução do desenvolvimento da raiz a devido à presença de fibras e uma círculo contínuo de esclereides na região cortical (WHITE; LOWELL, 1984), bloqueando a protrusão de novas raízes. Assim, as análises histológicas e

anatômicas são cruciais na detecção dessas barreiras anatômicas, para elucidar fatores na produção de estacas enraizadas. Além disso, o enraizamento adventício também depende de outros fatores, como os genótipos, espécies, híbridos e até mesmo clones podem exigir diferentes condições de cultivo (MOKOTEDI et al., 2010).

Neste sentido, levando em consideração a importância da acácia-negra para o Rio Grande do Sul e a falta de informações sobre a estrutura interna do caule, permitindo entender a origem das raízes adventícias e de como ocorrem esse processo da rizogênese, o presente estudo teve como objetivo descrever anatomicamente e histologicamente a estrutura do caule e o processo da rizogênese adventícia de clones selecionados de *A. mearnsii*. Deste modo, essas informações podem ser um importante suporte para o entendimento científico, facilitando no direcionamento de novas abordagens experimentais no sentido da maximização e otimização do enraizamento adventício da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Origem e modo das coletas do material vegetativo

Foram coletadas miniestacas de acácia-negra, provenientes do minijardim clonal instalado no Núcleo de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas (MPVP), Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil, nos anos de 2020 e 2021. Os clones foram identificados como B5, AB6 e A1845. As mudas utilizadas para o estabelecimento do minijardim clonal do MPVP foram oriundas da propagação clonal pela miniestaquia de minijardim pré-existente da empresa TANAGRO S.A., nos quais foram utilizados clones de acácia-negra. Os clones foram plantados em minijardim clonal e manejados como minicepas, para posterior obtenção das miniestacas.

Após 30 dias do plantio das mudas, foi realizada a poda drástica das plantas para formar as minicepas de acácia-negra, promovendo o crescimento e desenvolvimento das brotações laterais. Aos 60 dias da poda drástica da parte aérea das mudas, foi realizada a coleta das brotações para confecção das miniestacas de 2 cm de comprimento e folhas reduzidas em 50% de sua área original (AVINIO, 2021).

As miniestacas foram tratadas com solução hidroalcoólica de ácido indolbutírico (AIB) na concentração de 2.000 mg L⁻¹, por 10 segundos, sendo, posteriormente, dispostas nas bandejas de polietileno com 100 alvéolos com capacidade de 18 cm³, contendo proporções iguais de substrato comercial a base de casca de pinus, vermiculita média e areia de granulometria grossa na proporção de 1:1:1 (v/v/v). Os cultivos foram mantidos em câmara úmida automatizada com temperatura média de 32°C e nebulização a cada 30 minutos por 10 segundos, entre as 7 e 19 horas, pelo período de 30 dias, para o enraizamento (AVINIO, 2021).

O corte do material vegetativo coletado foi realizado a mão livre com o auxílio de uma lâmina de barbear, sendo realizados cortes de, aproximadamente, 1 cm da região basal das miniestacas, os quais foram fixados com a solução contendo 3% de glutaraldeído em tampão fosfato de sódio 0,1 M; pH 7,2 (GABRIEL, 1982; MCDOWELL; TRUMP, 1976) e o outro com a solução de 6% de glixal (DAPSON, 2007), e etiquetados (identificação do clone, o tipo de estaca, o fixador utilizado, a data da coleta, e a concentração do AIB).

Processamento das amostras para as análises anatômicas e histológicas

Para a análise anatômica e histológica, foram coletadas seis miniestacas por clone nos meses de março, julho e novembro de 2020 e fevereiro e abril de 2021. O momento da confecção das miniestacas dos clones foi equivalente ao tempo zero – T0, seguido de intervalos de 24 horas após o ferimento (secção/corte) – T1; cinco dias – T5; dez dias – T10; quinze dias – T15, posteriormente ao intervalo de 15 dias, ao se completar, portanto, os trinta dias – T30 após o plantio.

Após a coleta, o material vegetativo foi encaminhado ao Laboratório de Botânica Estrutural (LABOTE), Departamento de Biologia, CCNE/UFSM, para realizar o processamento das amostras coletadas. O material em fixador foi submetido ao vácuo, a fim de facilitar a penetração dos fixadores nos tecidos. Após 24 horas, realizou-se a lavagem das amostras em tampão de fosfato de sódio 0,1 M e pH 7,2 (GABRIEL, 1982) por 10 minutos, seguido de lavagem em água destilada por mais 10 minutos, e na sequência, as amostras foram mantidas em solução contendo detergente Tween 20 a uma concentração de 2ml/L, pelo período de sete dias, em movimento de rotação por meio de homogeneizador de soluções, com a finalidade da remoção de substâncias lipofílicas superficiais do sistema dérmico. Posteriormente, as amostras foram submetidas à desidratação em série etílica (10, 30, 50, 70, 90, 99%) por 20 minutos em cada concentração (O'BRIEN; McCULLY, 1981). Decorridos esses processos, o material foi pré-infiltrado em solução de 2-hidroxietil-metacrilato (HEMA) e etanol 99,6% (1:1) durante 24 h, seguido de infiltração em HEMA puro (GERRITS; SMID, 1983), durante aproximadamente 24 h.

O emblocamento do material foi em HEMA, em suporte de Teflon e Histomold Leica até a polimerização estar completa. Os cortes histológicos transversais e longitudinais foram realizados com 4 e 5 µm de espessura, obtidos com o auxílio de micrótomos de rotação Leica RM2245 e Thermo Fischer Finess ME+, os quais são equipados com navalhas de aço.

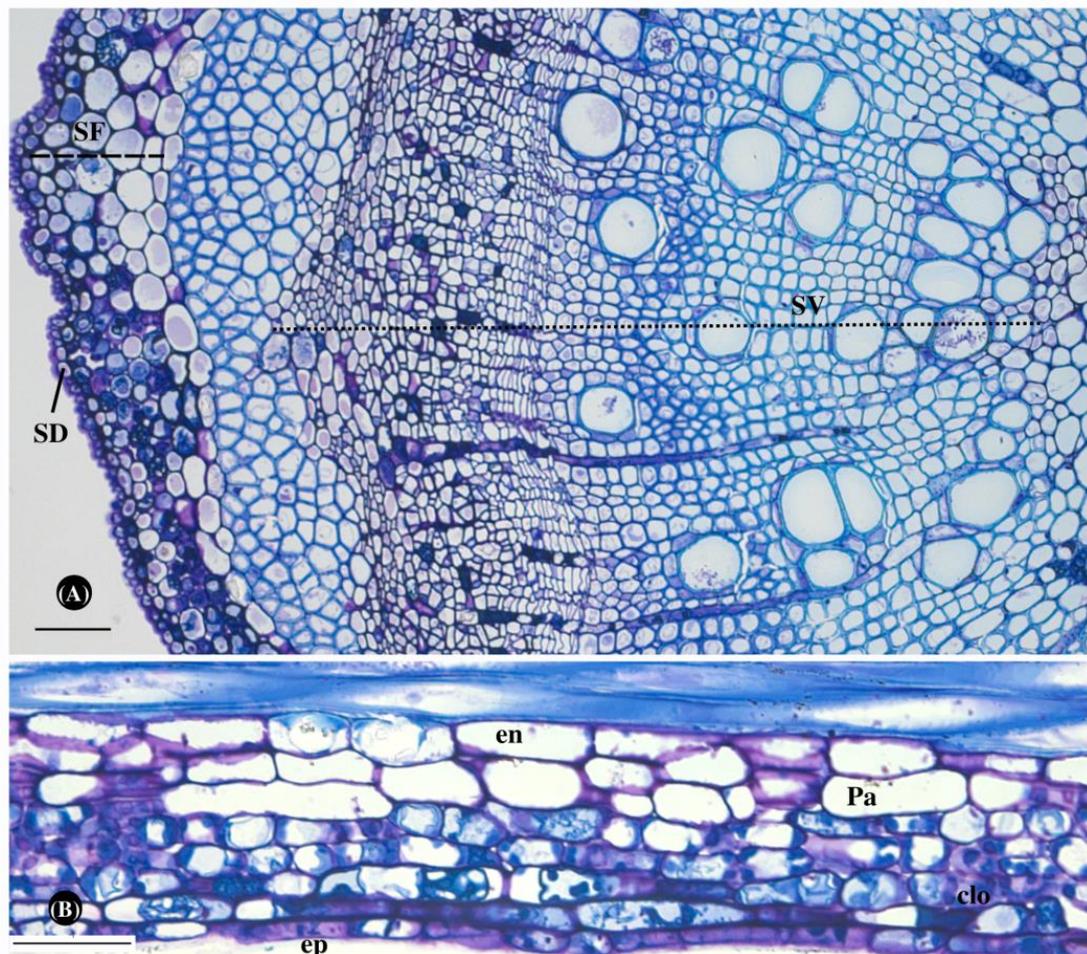
Os testes histoquímicos foram realizados com o Lugol (IKI) para a detecção do amido (JOHANSEN, 1940), e o azul de toluidina 0,05% para detecção de compostos pécnicos, fenólicos e lignina (O'BRIEN; MCCULLY, 1981). As análises histoquímicas foram realizadas em microscópios de campo claro Leica DM2000 e Zeiss AxioImager A2, ambos com sistema de captura de digital de imagens por meio de, respectivamente, câmera DFC 295 e software LAS 4.0 e Zeiss AxioCam RMC e software Zeiss Zen, sendo que, os resultados serão interpretados pela análise descritiva.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Anatômica do caule

A caracterização histológica das miniestacas de acácia-negra dos genótipos B5, AB6 e A1845, apresentaram semelhança quanto à estrutura morfoanatômica do caule das miniestacas, e quanto à origem de primórdios radiculares entre os genótipos estudados. De acordo com as observações dos cortes transversais e longitudinais, foi possível notar que os clones apresentaram crescimento primário e secundário, nestas, observou-se a presença do tecido dérmico, fundamental e vascular (Figura 1A). Em T0 verificou-se a epiderme unisseriada (Figura 1B), a qual apresenta paredes periclinais externas cutinizadas, cujas células são alongadas (Figura 1B).

Figura 1 – Cortes histológicos na base de miniestacas de *A. mearnsii* em tempo zero.



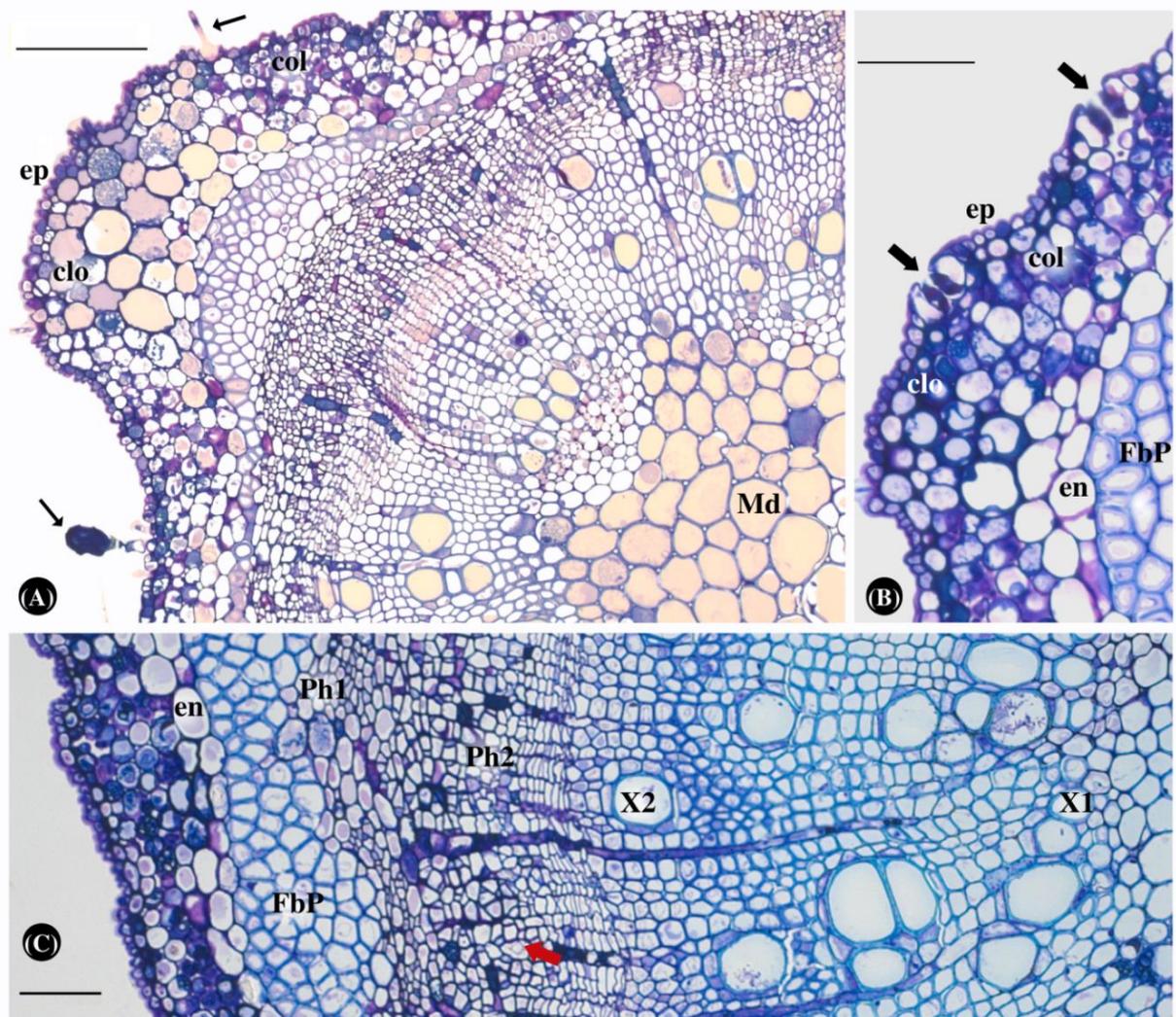
Fonte: Autora (2023).

FIGURA 1A,B: Micrografias de cortes histológicos na base de miniestacas de acácia, no momento da confecção das estacas. (A) – Seção transversal visão geral do caule apresentando estruturas do tecido dérmico, fundamental e vascular. (B) – Seção longitudinal detalhamento do alongamento das células da epiderme. SD = sistema dérmico; SF = sistema fundamental; SV = sistema vascular; ep = epiderme; Pa = parênquima; clo = clorênquima; en = endoderme. Barras: A = 50 μ m; B = 500 μ m.

Na região do tecido dérmico se observou a presença de complexos estomáticos e tricomas (Figura 2A,B). O sistema fundamental situa-se internamente a epiderme, formada pela região cortical, composta externamente por quatro a seis camadas de células alternadas de clorênquima e colênquima, e com grande quantidade de compostos fenólicos. Os compostos fenólicos são importantes nos primeiros estágios de desenvolvimento da raiz, pois está envolvido com oxidação da auxina, e sua presença pode aumentar os primórdios da raiz nas fases iniciais do enraizamento (ELMONGY et al., 2020). A região cortical internamente é formada por uma ou duas camadas de células parenquimáticas (Figura 2A,B), cujas células apresentaram menor quantidade de cloroplastos e pouca presença de compostos fenólicos, como também, idioblastos cristalíferos e a presença de alguns pequenos espaços intercelulares (Figura 2A,C).

A camada mais interna do córtex é a endoderme, formada por uma camada de células parenquimáticas (Figura 2B,C), com paredes tangenciais externas e cutinizadas, e não apresentaram estrias de caspary. Também foi possível verificar que algumas células da endoderme possui parede tangencial interna esclerificada e lignificada.

Figura 2 – Seções transversais com detalhamento anatômico do caule



Fonte: Autora (2023).

FIGURA 2A,B,C: Seções transversais de cortes histológicos na base de miniestacas de acácia após coleta das mesmas sem efetuar o plantio no substrato. (A) – Visualização dos tecidos da epiderme, clorênquima, colênquima, medula, e as estruturas dos tricomas (seta fina). (B) – Detalhamento do tecido cortical, endoderme, fibras, e a visualização dos estômatos (seta grossa). (C) – Detalhes do tecido vascular como floema e xilema primário, floema e xilema secundário, e representado pela seta vermelha os idioblastos. ep = epiderme; clo = clorênquima; col= colênquima; Md = medula; en = endoderme; FbP = fibras do floema; Ph1= floema primário; Ph2 = floema secundário; X1 = xilema primário; X2 = xilema secundário. Barras: A = 50 μ m; B = 50 μ m e C = 100 μ m.

Posteriormente ao sistema fundamental, nota-se a presença de um cilindro descontínuo de esclerênquima (Figura 3A), chamado por alguns autores como bainha esclerenquimática, que está situado ao redor dos tecidos vasculares, responsáveis pela sustentação e proteção da

planta. Características semelhantes foram relatadas em outros gênero de *Acacia*, em *Acacia baileyana* (SCHWARZ et al., 1999), *Acacia mangium* (AHMAD, 1989), *Acacia montana* Benth. (CHEN et al., 2003) e *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don (DUARTE; WOLF, 2005), onde os autores observaram a presença dessa camada não contínua de esclereides e fibras.

Alguns autores relatam que a presença desse cilindro esclerenquimático é regularmente formada exteriormente ao local onde ocorre a iniciação do enraizamento adventício à medida que o caule se desenvolve (HARTMANN et al. 2011; APPEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2013; EVERT, 2013). Porém, outros estudos apontam que a capacidade de enraizamento pode ser às vezes influenciada de forma negativa com a continuidade ou número de camadas celulares deste tecido esclerenquimático (WENDLING et al., 2015; MENDONÇA et al., 2019; SANTORO et al., 2022).

Visto que, alguns autores relatam que as principais causas da má formação de raízes em estacas lenhosas podem ocorrer devido à presença do tecido esclerenquimático, com paredes espessas que circunda o cilindro vascular, e que atuava como barreiras mecânicas na penetração de água (BEAKBANE, 1969), ou barreira mecânica (EDWARDS; THOMAS, 1980), e podem interferir o início e a emergência de raízes adventícias. As fibras descontínuas de esclerênquima que delimitam o câmbio podem atuar parcialmente como barreira anatômica, causando desvio no crescimento radial de primórdios radiculares conforme observado na espécie *Eucalyptus urophylla* (MENDONÇA et al., 2020).

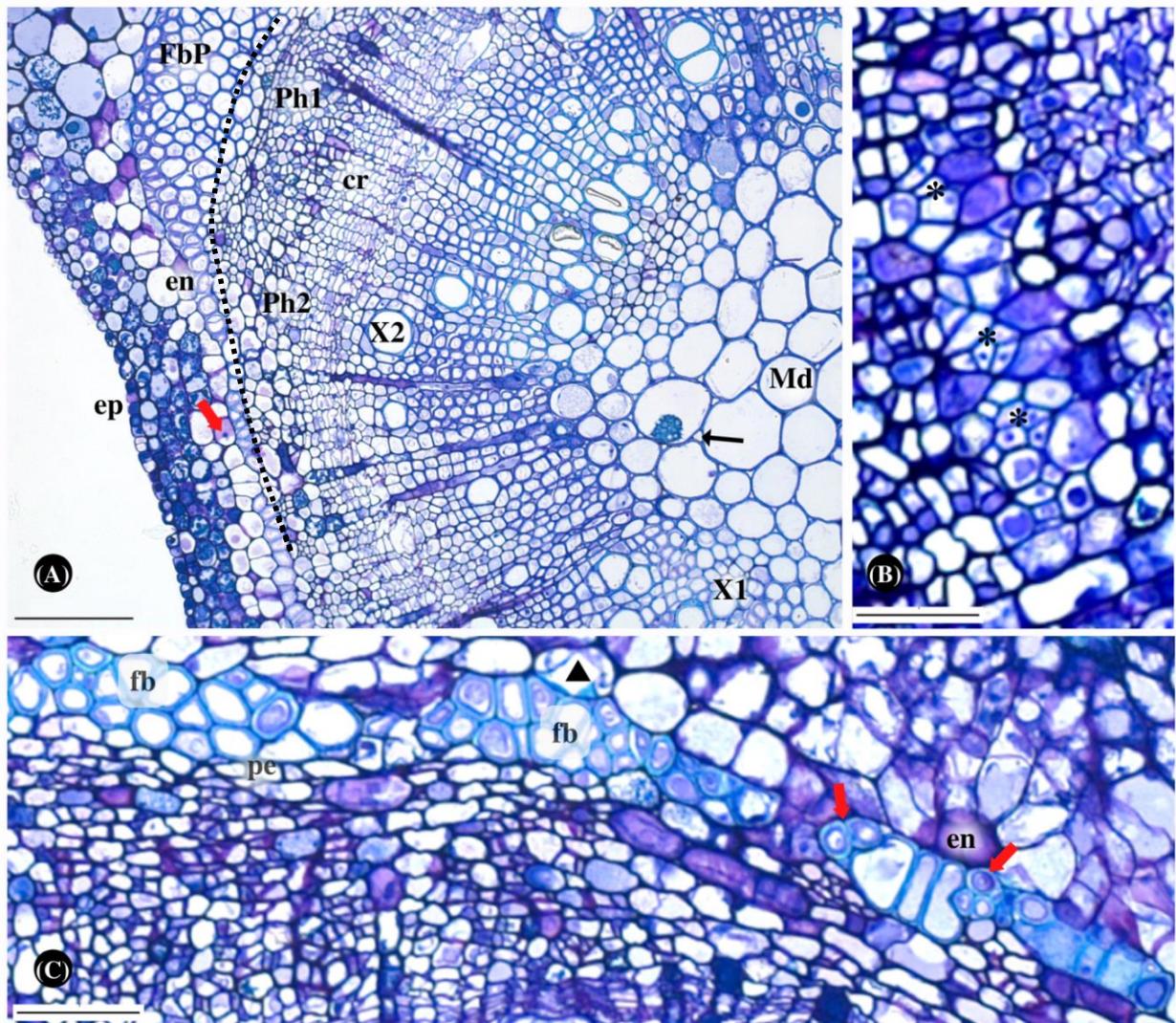
Entretanto, a hipótese mencionada anteriormente não determina a relação direta da esclerificação e a redução na capacidade de enraizamento (AMISSAH et al. 2008 ; HARTMANN et al. 2018). Corroborando isso, a indução de raízes adventícias pode advir de rupturas do esclerênquima que se formam durante o desenvolvimento da formação de raízes e ou do caule, de modo que, espécies com dificuldade de enraizar muitas vezes não conseguem desenvolver os primórdios radiculares, independente da região esclerenquimática (HARTMANN et al., 2018). Além disso, em outras espécies lenhosas a formação de raízes adventícias em estacas e miniestacas ocorrem em menor tempo, principalmente devido à inexistência dessas barreiras anatômicas (PIMENTEL et al., 2020).

Nesse estudo o tecido esclerenquimático não atuou como uma barreira anatômica ao desenvolvimento de primórdios radiculares de miniestacas de *A. mearnsii*, assim como também no estudo de *Ilex paraguariensis* descrito por Pimentel et al. (2020).

Internamente a faixa descontínua de esclerênquima, observa-se a região do periciclo formada com inúmeras células, delimitando o cilindro vascular (Figura 3C). As células

pericíclicas apresentam baixa lignificação, mudam a estrutura em algumas regiões removendo a lignina e em outras mantendo lignificação e crescendo independentemente (Figura 3C). Na região do câmbio interfascicular normalmente ocorre acúmulo de esclereides, local onde não ocorre a desdiferenciação de esclerênquimas, e de fibras descontínuas (Figura 3B), e também a presença de agrupamentos de fibras vivas. A região vascular, é constituída por alternância entre os feixes vasculares, em direção ao centro é formada por células do floema secundário e primário, e por xilema secundário e primário (Figura 3A). A região medular é formada por células parenquimáticas, e com alguns espaços intercelulares (Figura 3A).

Figura 3 – Seções transversais com detalhamento morfoanatômico de estruturas e tecidos.



Fonte: Autora (2023).

FIGURA 3A, B, C: Seções transversais de cortes histológicos de miniestacas de acácia em T0. (A) – Visualização de um cilindro descontínuo de esclerênquima (traço pontilhado), floema e xilema primário, floema

e xilema secundários, e tecidos endoderme e fibras do floema, medula, espaços intercelulares (seta fina), célula com vacúolo e núcleo (seta vermelha) e região do câmbio. (B) – Detalhes da região do câmbio interfascicular, onde ocorre acúmulo de esclereídes (asteriscos). (C) – Detalhamento dos tecidos endoderme, fibras, esclereídes (seta vermelha), periciclo, idioblastos (prisma). Md = medula; en = endoderme; FbP = fibras do floema; fb = fibras; pe = periciclo; Ph1= floema primário; Ph2 = floema secundário; cr = região câmbio; X1 = xilema primário; X2 = xilema secundário. Barras: A = 100 μm ; B = 50 μm e C = 50 μm .

Descrição anatômica da rizogênese adventícia em dias de cultivo

O presente estudo mostrou que as miniestacas dos clones estudados (Figura 4A) revelaram características anatômicas semelhantes, ou seja, não há nenhuma característica anatômica que determine diferenças no desempenho do enraizamento adventício nesse presente estudo. Ainda, observou-se o crescimento secundário em todos os clones estudados, sendo caracterizado pela atividade da região cortical, endoderme, periciclo, e tecidos vasculares. Nos cortes basais das miniestacas mostrou a camada de epiderme localizada mais externamente (Figura 4B). Um anel esclerenquimático descontínuo, que circunda o cilindro vascular, separando a região do córtex dos feixes vasculares (Figura 4A). Essa camada de esclerênquima é formada por esclereídes e fibras descontínuas (Figura 4C).

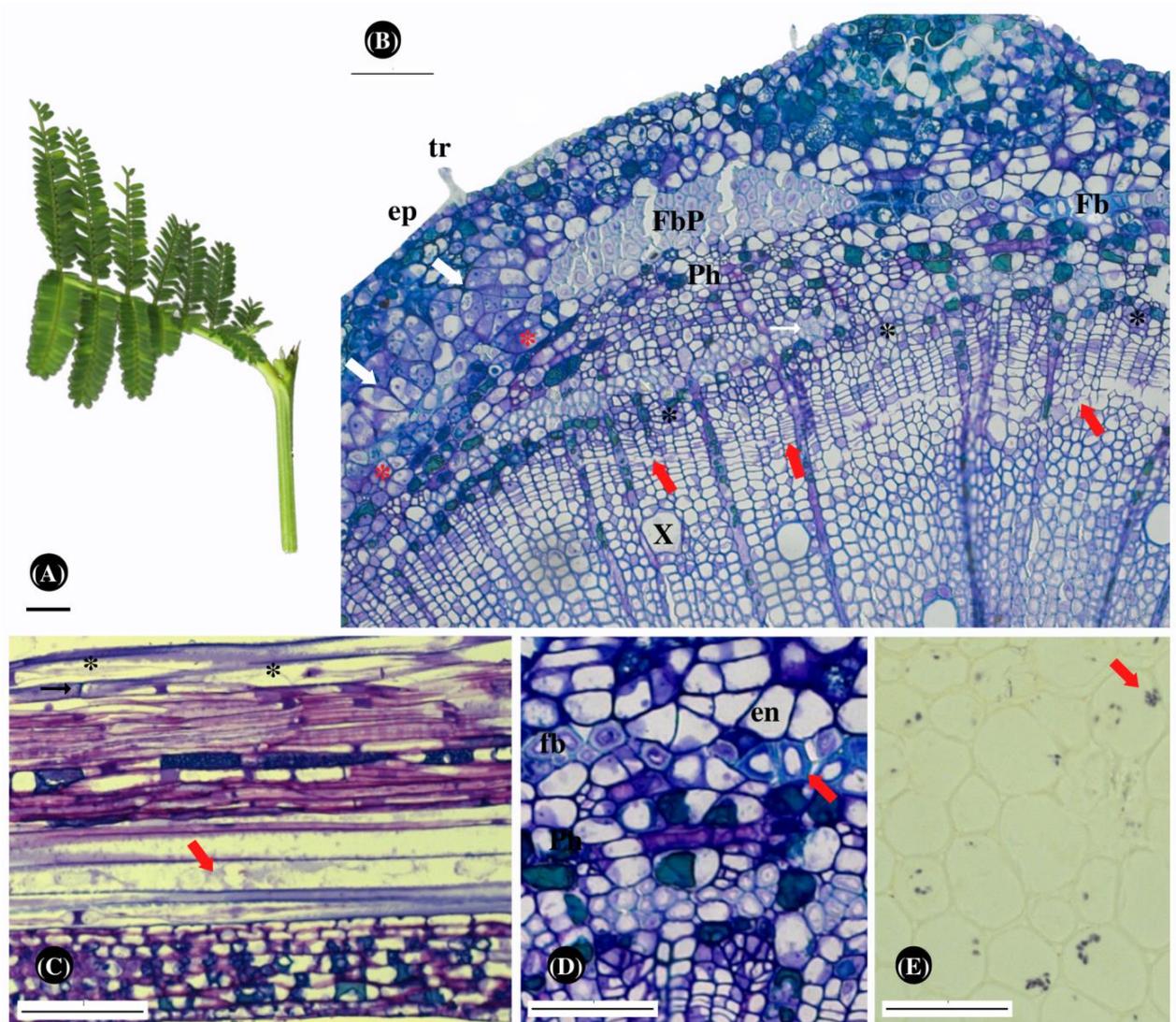
Em T0 os raios vasculares iniciaram-se com fileiras unisseriadas e expandiram-se para a parte externa do floema (Figura 4B). A região câmbio e o xilema estão localizados internamente do tecido floemático (Figura 4B). O xilema consiste em elementos de vaso (Figura 4C). Em alguns locais, as camadas de esclereídes são formadas por uma ou duas células de espessura observadas no floema externo (Figura 4D).

A região medular das células parenquimáticas é localizada ao centro do caule, com a presença de poucos grãos de amido, distribuídos ao longo da região medular (4E). O amido é de suma importância para o processo de enraizamento, por ser um pré-requisito no fornecimento de energia, devido a sua quebra em carboidratos, consumida principalmente no processo de respiração celular, visando à divisão, alongamento e diferenciação dos tecidos (RICKLI et al., 2015).

Nas primeiras 24 horas (T1) foi possível observar o citoplasma, vacúolos, núcleo e nucléolo bem desenvolvido, houve reações de algumas células em decorrência da desdiferenciação e proliferação celular, principalmente na região cortical e na endoderme (Figura 4B), sendo que, essas reações ocorreram de formas independentes ao longo do tecido. Nessas regiões de proliferação do córtex as células do parênquima se dividiram, e

apresentaram um núcleo e nucléolo bem volumoso (Figura 4B), além disso, observou que ficaram pequenos fragmentos nessa região cortical que não sofreram divisões decorridas da proliferação, apresentando tecido parenquimático isodiamétrico. Ocorreu também a proliferação celular na região floemática e do periciclo, além de alterações na atividade do câmbio vascular e na estrutura celular, após uma sequência de divisões transversais (Figura 4B).

Figura 4 – Seções transversais e longitudinais de cortes histológicos de miniestacas de acácia.



Fonte: Autora (2023).

FIGURA 4A,B,C: Seções transversais e longitudinais de cortes histológicos de miniestacas de acácia. (A) – Visualização de aspectos macroscópicos de miniestaca de *A. mearnsii* em T1. (B) – Seção transversal de

miniastacas em T1, detalhando um cilindro descontínuo de esclerênquima, floema e xilema, tecidos endoderme (asteriscos vermelho) e região cortical (setas brancas) desdiferenciando, região do floema e periciclo proliferando (asterisco preto) e alteração da atividade do cambio (setas vermelhas). (C) – Seção longitudinal com detalhes das fibras do floema (seta vermelha) elementos de vasos (asteriscos) e placa (seta preta). (D) – Detalhamento dos tecidos endoderme, fibras, esclereides (setas vermelhas). (E) – Seção transversal com detalhamento de grãos de amido na região medular. Md = medula; en = endoderme; FbP = fibras do floema; fb = fibras; pe = periciclo; Ph = floema; Ph1= floema primário; Ph2 = floema secundário; X1 = xilema primário; X2 = xilema secundário; tr = tricomas. Barras: A = 5 mm; B = 100 µm, C e D = 50 µm.

No tratamento T5, houve um aumento de volume e tamanho nas células, na região do floema primário e periciclo, em decorrência da desdiferenciação e proliferação celular, observou-se também acúmulo de compostos fenólicos nessas regiões (Figura 5A,B). Verificou-se também o crescimento dos raios parenquimáticos no sentido de dentro para fora (Figura 5B), provocando um aumento no tamanho das células, que se alongaram e realizaram conexões com as células parenquimáticas da região cortical, estabelecendo assim a conexão vascular entre os tecidos característicos, semelhantes ao que foi descrito por *A. mangium* (AHMAD, 1989).

Em T5 a epiderme e na região cortical observou células com açúcares vacuolados, que aumentaram em quantidade e em maior intensidade de coloração, ocorrendo uma maior distribuição dessas células acumulando açúcares (Figura 5A). Entretanto, o processo de indução do enraizamento requer uma quantidade significativa de energia, portanto altos níveis de açúcares podem auxiliar a formação de raízes adventícias (ELMONGY et al., 2020). Além disso, os carboidratos solúveis são considerados a principal fonte de carbono nas plantas, o que tornam fundamentais a sua mensuração, principalmente durante o processo de enraizamento da planta (CHU et al., 2010). Desse modo, a presença de carboidratos estimula diretamente a resposta de enraizamento, pois é fonte de energia para a biossíntese de ácidos nucleicos e proteínas, além dos açúcares que constituem paredes celulares em ampla formação (ALMEIDA et al., 2017; HARTMANN et al., 2018).

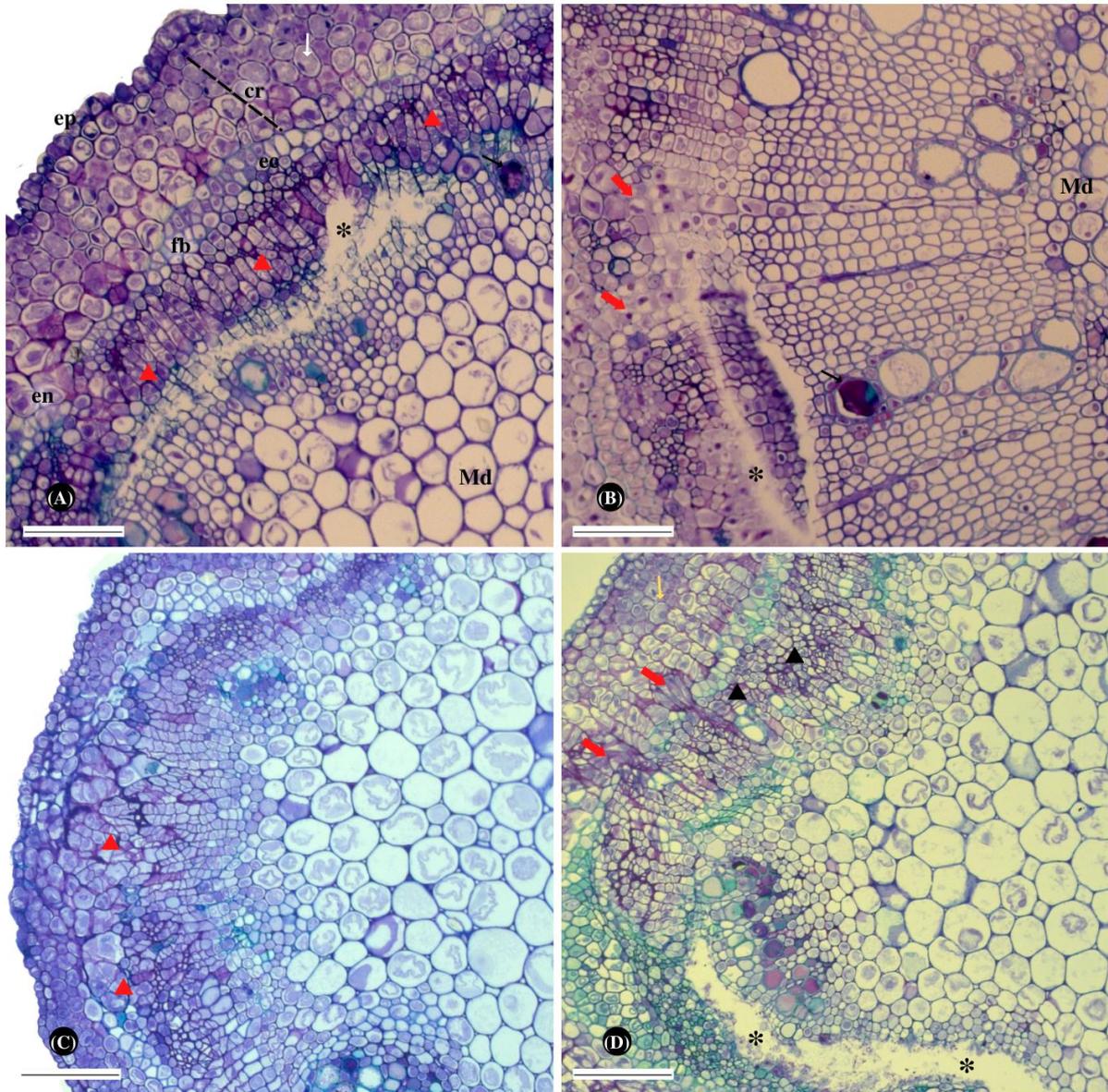
Na fase do 10º ao 15º dia de cultivo, as células da região floemáticas expressaram uma característica meristemática e se dividiram em diferentes direções (Figura 5C), nas regiões onde as divisões celulares estavam ativas, algumas células tornaram-se maiores com núcleos notavelmente volumosos (Figura 5D). Observou também na região cortical que há trechos com alongamento celular. O desenvolvimento radicular dos genótipos de acácia ocorreu pelo processo da proliferação da endoderme (Figura 5D), assim como também pela atividade do

floema primário e secundário nos primeiros dias após a inserção da miniestaca, contribuindo assim, para a formação de novas células.

Entre T15 e T30 dias de cultivo, as células da endoderme e do floema próximas a esses fragmentos esclerenquimáticos se mantêm dividindo, proliferando e alongando (Figura 5D), sendo que, nessas regiões ocorre o recrutamento de células para formar as novas raízes, assim, como também a conexão entre os tecidos vasculares com a vascularização radicular adventícia.

A bainha esclerenquimática descontínua não impediu a formação de raízes adventícias dos genótipos como já mencionado. Mas foi possível observar logo nas primeiras horas de cultivo entre 36-48 horas, tecidos com proliferações de fungos (Figura 5A,B,D), nos quais acarretaram perda tecidual em regiões do câmbio e do xilema, de modo, a gerar rompimento desses tecidos (Figura 5D), sendo que, verificou a presença desses fungos que ocasionam a degradação biótica de tecidos, que bem provável, começou a proliferação, quando ainda as plantas estavam vivas, e podendo estarem associadas principalmente à colonização fúngica (LEFEBVRE et al., 2023). Dessa forma, estes fungos degradando tecidos importantes para a conexão vascular, acarretaram em uma barreira exógena (ambiental) ao desenvolvimento de raízes, mas por ser um fator plástico, através de manejo e cultivo adequado tem como superar essa a tal barreira, para os genótipos aqui estudados.

Figura 5 – Seções transversais de cortes histológicos de miniestacas em T10 e T15.



Fonte: Autora (2023).

FIGURA 5A, B, C, D: Seções transversais de cortes histológicos de miniestacas. (A) – Visualização de aspectos anatômicos de miniestaca de *A. mearnsii* em T5, sessão transversal com detalhes da dediferenciação e proliferação celular no floema primário e periciclo (triângulos vermelhos), acúmulo de compostos fenólicos (seta preta) e também observou aumento de células acumulando açúcares vacuolados (seta branca). (B) – Seção transversal com detalhamento do crescimento dos raios medulares no sentido de dentro para fora (seta vermelha) e acúmulo de compostos fenólicos (seta preta). (C) – Em T10 Detalhamento da região floemáticos expressaram uma característica meristemática (triângulo vermelho). (D) – Algumas células tornaram-se maiores com núcleos notavelmente volumosos (seta amarela), a proliferação da endoderme (seta vermelha), e a região do floema próximo a esses fragmentos esclerenquimáticos se mantêm dividindo, proliferando (triângulo preto). ep = epiderme; Md = medula; en = endoderme; Fb = fibras; cr = região cortical; * = região contaminada por fungos.

Barras: A, B, C, D = 50 μ m.

Entretanto, não foi possível observar nas análises histológicas o tempo que se comprovasse o momento exato, devido à coleta do material vegetativo, pois, aos 30 dias as raízes já estão estabelecidas (Figura 6A). No presente estudo, salienta-se a importância da proliferação do tecido floemático juntamente com a região cortical para o estudo, pois, a partir desses tecidos que ocorrem as etapas do processo rizogênico, assim como, também a formação de calos. Os calos são arranjos de células desorganizadas, que podem desempenhar o papel de cicatrizante ao um determinado ferimento da planta, e conforme sua densidade pode ser sim um indicativo de que o genótipo tem competência ao enraizamento adventício (ZHU et al., 2018).

A formação de calos é importante na produção de raízes, influenciando diretamente a iniciação radicular (LOVELL; WHITE, 1986) ou até indicar baixa juvenilidade do material (STUEPP et al. 2015). Estes dependem de diversos fatores como, a qualidade do material genético, balanço hormonal, tipo de corte e idade dos propágulos (PIMENTEL et al., 2019). Dessa forma, a formação de raízes e calos pode acontecer em processos independentes em algumas espécies, mas como também, a formação de calos pode induzir à formação de raízes adventícias (XAVIER et al. 2013).

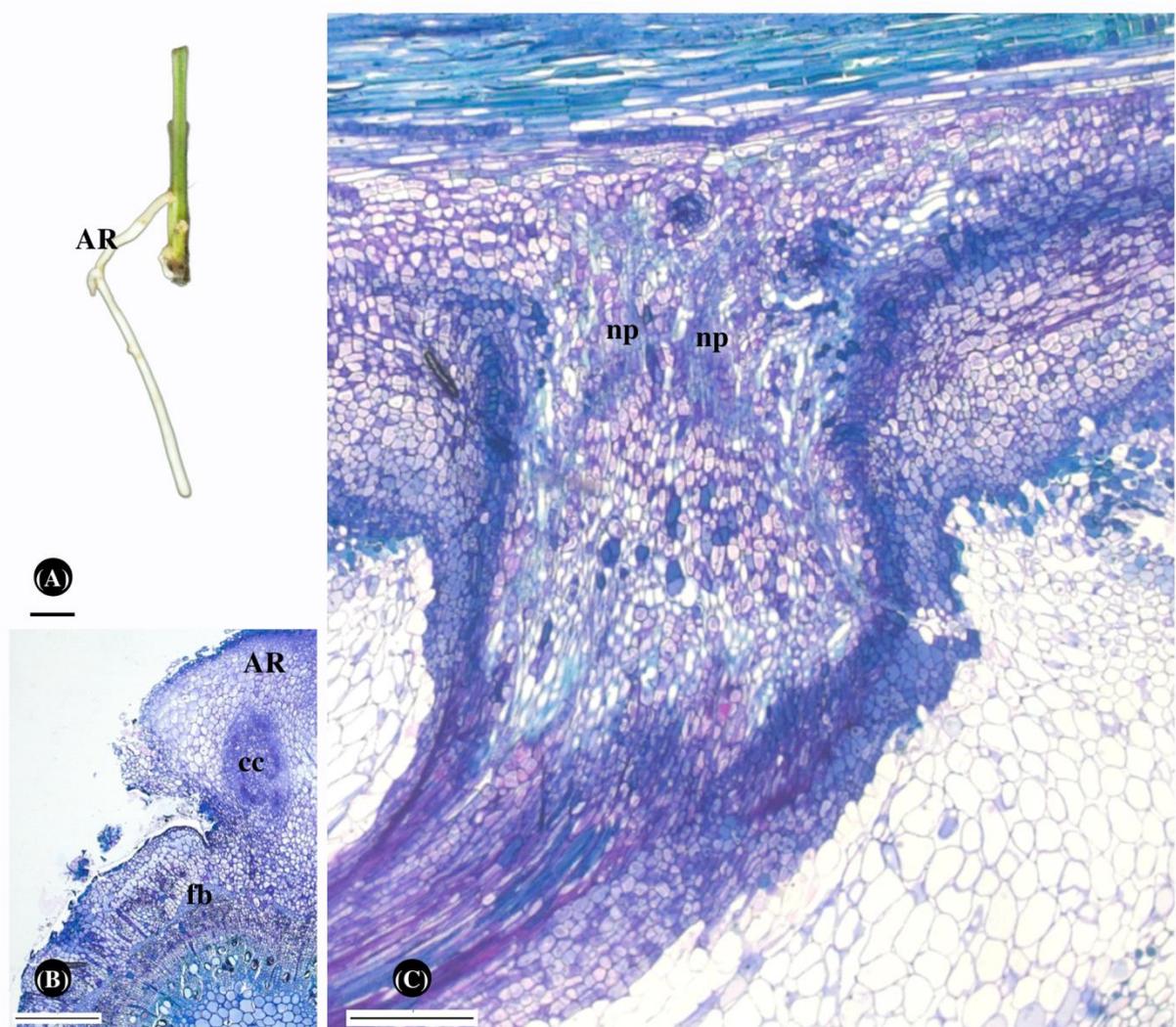
Visto que, aos 30 dias já com a raiz estabelecida (Figura 6B), nota-se que a presença esclerenquimática descontínua e a formação de calos, não impossibilitaram a formação de raízes desta espécie (Figura 6C), caracterizando o processo de enraizamento adventício de *A. mearnsii* como padrão indireto.

Portanto, para a espécie em estudo as observações gerais anatômicas mostraram padrão indiretamente na formação de raízes adventícias em miniestacas de *A. mearnsii*, ocorreram através da proliferação e desdiferenciação de alguns tecidos importantes, a formações de células meristemáticas, a diferenciação da origem de primórdios radiculares e a diferenciação de tecidos vasculares, que é simultâneo ao crescimento da raiz adventícia.

A rizogênese de *A. mearnsii* possui barreiras ao seu desenvolvimento, mas não são anatômicas, como citada em estudos de Beakbane (1969). Em linhas gerais o processo de enraizamento adventício da acácia-negra ocorre aparentemente na região da endoderme predominando divisões longitudinais-tangências e nas demais células da região cortical com divisões longitudinais-radiais, sempre acompanhando a hipertrofia, também percebe que nas camadas corticais o núcleo e nucléolo se tornam volumoso.

A reação de hipertrofia e hiperplasia não atinge em todas as células, sendo que aquelas que não reagem, ou demoram, acabam sendo comprimidas pelas reações. Considerando a continuidade do desenvolvimento a região do floema também contribui na formação de novas células, através da proliferação e diferenciação de grupamentos de elementos vasculares, se mantêm divisíveis, e formam conexões com tecidos condutores e originando a projeção de novos tecidos para formar as raízes. No entanto, elucidar a anatomia do caule é fundamental para a compreensão do processo de rizogênese.

Figura 6 – Seções transversal e longitudinal na região basal das miniestacas de *A. mearnsii*, demonstrando a formação dos primórdios radiculares em 30 dias.



Fonte: Autora (2023).

FIGURA 6A,B,C: Seções transversais e longitudinais de cortes histológicos de miniestacas de acácia. (A) – Visualização de aspectos macroscópicos de miniestaca de *A. mearnsii* com a raiz formada. (B) – Sessão

transversal de miniestacas em T30, detalhando a formação de uma raiz já estabelecida e demonstrando a região do cilindro central. Figura (C) – Seção longitudinal com detalhes da raiz em T30, demonstrando as conexões entre os tecidos, e o tecido neoformados. AR = raiz adventícia; np = tecido neoformado; cc = cilindro central. Barras: A = 5 mm; B = 100 µm, C = 50 µm.

Avaliar e descrever a formação de primórdios radiculares de *A. mearnsii* propiciou uma maior compreensão sobre a iniciação radicular dos genótipos, que respondeu principalmente a hipótese que mesmo com a presença de feixe não contínuo de esclerênquima verificou-se que a raiz supera tal barreira, crescendo das imediações floemáticas em direção à epiderme, e o fator limitante nesse estudo pode estar atribuído à proliferação de fungos nos tecidos dos genótipos estudados. Deste modo, acarretando a redução de número de raízes por miniestaca, assim como, também a assimetria dessas raízes e a instabilidade da muda, limitando a formação do enraizamento adventício por miniestacas (MOKOTEDI et al. 2010).

Sendo que, estudos mais aprofundados com a anatomia e a fisiologia podem elucidar ainda mais detalhes do processo da rizogênese de acácia-negra, de acordo com a competência do enraizamento dos clones. Ainda, observou que as mesmas condições de cultivo usadas para maximizar a produção de mudas, pode sim beneficiar o ambiente ideal para o desenvolvimento de doenças, podendo impactar no processo de formação de raízes. Deste ponto de vista, a formação da raiz também pode ser controlada por alguns fatores como, a seleção de material (qualidade do genótipo), ambiental (manejos), fisiológicos e bioquímicos.

CONCLUSÕES

As raízes adventícias de miniestacas de *A. mearnsii* são originárias pelo processo da proliferação da endoderme, dos tecidos vasculares e pela atividade do floema primário e secundário para a formação de novas células. O processo rizogênico não é afetado pela formação de calos, correspondendo assim, ao padrão indireto de enraizamento. A presença de um anel de esclerênquima descontínuo circundando o sistema vascular das hastes de acácia-negra não constitui uma barreira mecânica à emissão de raízes. Um fator limitante nesse estudo pode estar atribuído à proliferação de fungos observados em tecidos da região cambial e xilemática, caracterizando com tal barreira (ambiental) ao enraizamento adventício dos clones.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. de. **Clonagem e doenças do eucalipto**. 2. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, p. 500, 2009.
- ALMEIDA, M.R. *et al.* G. Environmental control of adventitious rooting in *Eucalyptus* and *Populus* cuttings. **Trees**, v. 31, p. 1377–1390, 2017.
- AMISSAH, J. Naalamle.; PAOLILLO, Dominick J.; BASSUK, Nina. Adventitious root formation in stem cuttings of *Quercus bicolor* and *Quercus macrocarpa* and its relationship to stem anatomy. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 133(4), p. 479-486. 2008. DOI: <https://doi.org/10.21273/JASHS.133.4.479>
- APPEZZATO Da Glória; CARMELLO Guerreiro. **Anatomia Vegetal**. 3. ed. Viçosa: Editora Ufv. 2012
- AVINIO, Renata Smith. Competência ao enraizamento adventício de miniestacas de *Acacia mearnsii* De Wild. 2021. 88p. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Florestal). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2021.
- BEAKBANE, A. B. Relationships between structure and adventitious rooting. International Plant Propagators' Society, Combined Proceedings, v.19, p. 192-201, 1969.
- BRONDANI, Gilvano E.*et al.* Avaliação morfológica e produção de minijardim clonal de *Eucalyptus benthamii* em relação a Zn e B. **Pesquisa florestal brasileira**, Colombo, v. 32, n. 70, p. 151-164, 2012.
- BRONDANI, Gilvano E. *et al.* Mini-incubators improve the adventitious rooting performance of *Corymbia* and *Eucalyptus* microcuttings according to the environment in which they are conditioned. An Acad Bras Ciênc [Internet]. 2018 Aug;90(**Anais...** Acad. Bras. Ciênc., 2018 90(2) suppl 1). DOI: <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720170284>
- CARVALHO, Paulo Ernani Ramalho. *Acacia mearnsii* (Acácia-negra). Instrução técnica, **Embrapa**, 1999.
- CHAN, J. M.; DAY, P.; FEELY, J.; THOMPSON, R.; LITTLE, K. M.; NORRIS, C. H. *Acacia mearnsii* industry overview: current status, key research and development issues. **Southern Forests**, v. 77, p. 19-30, 2015.
- CHEN, L.-M. *et al.* Naphthaleneacetic acid suppresses peroxidase activity during the induction of adventitious roots in soybean hypocotyls J. **Plant Physiol.** v.159, p. 1349-1354, 2003.
- CHU, E.P. *et al.* Effects of auxins on soluble carbohydrates, starch and soluble protein content in *Aechmea blanchetiana* (Bromeliaceae) cultured in vitro. **Scientia Hort.** 125, p. 451-455, 2010.
- DAPSON, R. W. **Glyoxal fixation**: how it works and why it only occasionally needs antigen. 2007. DOI: 10.1080/10520290701488113

DUARTE, M. R.; WOLF, S. Anatomical characters of the phyllode and stem of *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don (*Fabaceae*). **Revista Brasileira De Farmacognosia**, 15(Rev. bras. farmacogn., 2005 15(1)). <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2005000100015>

EDWARDS, R.A.; THOMAS, M.B. Observations on physical barriers to root formation in cuttings. **Plant Prop.** v. 26, n. 6, p. 1-8. 1980.

ELMONGY, M.S.; WANG, W.; ZHOU, H.; XIA, Y. Humic Acid and Auxins Induced Metabolic Changes and Differential Gene Expression during Adventitious Root Development in *Azalea* Microshoots. v. 55, ed. 6, p. 1-10, 2020. DOI: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI14885-20>

EMBRAPA- Empresa brasileira de pesquisa agropecuária. Plantações florestais: geração de benefícios com baixo impacto ambiental. **Embrapa Florestas**, 2015.

EVERT, R. F. **Anatomia das plantas de Esau**: meristemas, células e tecidos do corpo da planta: sua estrutura, função e desenvolvimento São Paulo, SP: Blucher. 2013.

FOELKEL, C. E. B. Os eucaliptos e as leguminosas: *Acacia mearnsii*. **Eucalyptus online Book e Newsletter**, 2008. Disponível em: <http://www.eucalyptus.com.br/capitulos/PT08_leguminosas.pdf>. Acesso em: 15 Out. 2021.

GABRIEL, B.L. **Biological Electron Microscopy**. Van Nostrand Reinhold Company, New York, 1982.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; JUNIOR DAVIES, F. T.; GENEVE, R. L. Plant propagation: principles and practices. 8. ed. **New Jersey**: Englewood Clippis, p. 900, 2011.

HARTMANN, H.T. *et al.* Hartmann & Kester's plant propagation: Principles and practices (9th ed.). New York, NY: **Pearson**. 2018.

IKEUCHI, M.; SUGIMOTO, K.; IWASE, A. Plant callus: mechanisms of induction and repression. **Plant Cell** 9: 59-73. 2013.

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

JOHANSEN, Donald Alexander. **Plant microtechnique**. New York: McGraw Hill, v. 41, p. 193. 1940.

LEFEBVRE, L.; COMPÈRE, P.; GOBERT, S. The formation of aegagropiles from the Mediterranean seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile (1813): plant tissue sources and colonisation by melanised fungal mycelium. **Mar Biol** 170, 19. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00227-022-04166-0>

LORENZI, H.; BACHER, L. B.; TORRES, M. A. V. Árvores e arvoretas exóticas no Brasil: madeireiras, ornamentais e aromáticas. **Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda**, 2018.

- LOVELL, P. H.; WHITE, J. Anatomical changes during adventitious root formation. In New root formation in plants and cuttings. **Springer**, Dordrecht. p.111-140, 1986.
- MENDONÇA, E. G. *et al.* In vitro serial subculture to improve rooting of *Eucalyptus urophylla* **New Forests**, v. 51, p. 801-816, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11056-019-09761-6>
- MOKOTEDI, E.O. M; WATT, M.P; PAMMENTER, N. W. Analysis of differences in field performance of vegetatively and seed-propagated *Eucalyptus* varieties II: vertical uprooting resistance, Southern Forests: a **Journal of Forest Science**, 72:1, p. 31-36, 2010. DOI: [10.2989/20702620.2010.481131](https://doi.org/10.2989/20702620.2010.481131)
- MCDOWELL, E. M.; TRUMP, B. F. Histologic fixatives suitable for diagnostic light and electron microscopy. **Archives of pathology & laboratory medicine**, 100(8), p. 405-414.1976.
- OLIVEIRA, H. A. Acácia negra e tanino no Rio Grande do Sul. **Associação Brasileira de Acacicultores**. Porto Alegre, 1968.
- ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares. **Jaboticabal: FUNEP**, p. 83, 1996.
- O'BRIEN, T.P; FEDER N.; MCCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma** v. 59, p. 368-373, 1981.
- PACURAR, D.I.; PERRONE, I.; BELLINI C. Auxin is a central player in the hormone cross-talks that control adventitious rooting. **Physiol plant**. v. 151(1), p. 83–96, 2014. DOI: [HTTPS://DOI.ORG/10.1111/PPL.12171](https://doi.org/10.1111/PPL.12171)
- PIMENTEL, Nathalia. *et al.* Caracterização anatômica das raízes adventícias de mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) Miniestacas. **Arq. Bras de Biologia e Tecnologia** v. 63, p.1-13. 2020.
- PIMENTEL, Nathalia *et al.* Effect of mini-cutting size on adventitious rooting and morphophysiological quality of *Ilex paraguariensis* plantlets. **J. For. Res.** v. 32, p. 815–822, 2021.
- POP, T. I.; PAMFIL, D.; BELLINI, C. Auxin control in the formation of adventitious roots. **Notulae Botanicae Horti Agrobotica Cluj-Napoca**, Cluj-Napoca, v. 36, n. 1, p.307-316, 2011.
- ROSSA, U. B. **Produtividade de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) sob efeito de variação de luminosidade e adubação**. 2013, 208 p. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade do Paraná, Curitiba, 2013.
- RICKLI, Helena C. *et al.* Origem de brotações epicórmicas e aplicação de ácido indolilbutírico no enraizamento de estacas de *Vochysia bifalcata* Warm.. **Ciência Florestal**, 25(Ciênc. Florest., 2015 25(2)). DOI: <https://doi.org/10.5902/1980509818457>
- SANTORO, M. B. *et al.* Adventitious rooting and anatomical aspects of *Campomanesia*

phaea stems. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 44(**Acta Sci., Agron.**, 2022 44). 2022. DOI: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v44i1.53602>

SCHWARZ, J.L.; GLOCKE, P.L.; SEDGLEY, M. Adventitious root formation in *Acaciabaileyana* F. Muell. **J Hortic Sci Biotech** v.74, p. 561-565.1999.

STUEPP, Carlos André *et. al.* Estaquia de árvores adultas de *Paulownia fortunei* var mikado a partir de brotações epicórmicas de decepta. **Cienc Florest** v.25, p. 667-677. 2015.

WENDLING, I.; BROOKS, P. R.; TRUEMAN, S. J. Topophysis in *Corymbia torelliana* × *C. citriodora* seedlings: adventitious rooting capacity, stem anatomy, and auxin and abscisic acid concentrations. **New Forests** , 46(1), p. 107-120, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11056-014-9451-7>

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R.L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas** 2 ed., Viçosa MG: UFV, 279 p. 2013.

ZHU, Xiangtao. *et al.* Callus induction and plant regeneration from leaves of peony. **Hortic. Environ. Biotechnol.** 59, p. 575–582, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13580-018-0065-4>

5 Capítulo II

ESTUDOS HISTOLÓGICOS EM *Acacia mearnsii* DE WILD. E *Ilex paraguariensis* A. ST.-HIL. REVELAR NOVOS INSIGHTS SOBRE AS BARREIRAS AO ENRAIZAMENTO ADVENTÍCIO

O objetivo do presente estudo foi realizar estudos histológicos para trazer novos insights de como as barreiras podem afetar o enraizamento adventício de miniestacas de *A. mearnsii* e *I. paraguariensis*. A formação de raízes adventícias é fundamental para a propagação vegetativa em espécies florestais com importância econômica, como *Acacia mearnsii* e *Ilex paraguariensis*. A propagação assexuada é comumente utilizada para programas de reprodução devido ao seu curto ciclo de vida, e a alta eficiência nos povoamentos. A falta de informação sobre as barreiras de enraizamento adventício aos segmentos de miniestacas bem como seus processos de formação para ambas as espécies, é bem limitada na literatura. O enraizamento adventício é um evento biológico comumente tratado em termos histológicos. Portanto, ao entender os mecanismos reguladores da formação de raízes é vital para o uso prolongado e eficaz dos recursos biológicos das plantas. As análises dos potenciais de enraizamento em função da própria estrutura dos caules são marcantes, principalmente no que diz respeito às barreiras anatômicas. Reforçando a necessidade dos estudos histológicos, uma vez que um peso importante que se dava às barreiras anatômicas, pelo insucesso do enraizamento, foi muito reduzido, além dos marcadores morfológicos de referência terem sido claramente estabelecidos. Os resultados apontados pelas análises histológicas trouxeram importantes insights e contribuições para ambas as espécies. A rizogênese possui barreiras, mas estas não são necessariamente anatômicas. Em *A. mearnsii*, verificou-se que a ausência de tecido aparece como uma barreira, decorrido a proliferação de fungos, já para *I. paraguariensis*, a presença de amido em abundância foi marcante em clones com maior competência de enraizamento. A formação de raízes adventícias em ambas as espécies segue um padrão semelhante, desde o recrutamento de células, a formação do calo e vascularização adventícia, caracterizando a formação de raízes funcionais como padrão indireto.

Palavras-chaves: espécies florestais, raiz adventícia; propagação clonal; barreiras; fungo.

ABSTRACT

HISTOLOGICAL STUDIES ON *Acacia mearnsii* De Wild. and *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. REVEAL NEW INSIGHTS INTO BARRIERS TO ADVENTITIOUS ROOTING

The aim of the present study was to perform histological studies to bring new insights into how barriers can affect adventitious rooting of *A. mearnsii* and *I. paraguariensis* minicuttings. The formation of adventitious roots is essential for vegetative propagation in economically important forest species, such as *Acacia mearnsii* and *Ilex paraguariensis*. Asexual propagation is commonly used for breeding programs due to its short life cycle and high efficiency in stands. The lack of information about adventitious rooting barriers to minicutting segments, as well as their formation processes for both species, is very limited in the literature. Adventitious rooting is a biological event commonly treated histologically. Therefore, understanding the regulatory mechanisms of root formation is vital for the prolonged and effective use of plant biological resources. Analyses of rooting potentials as a function of the structure of the stems are remarkable, especially with regard to anatomical barriers. Reinforcing the need for histological studies, since an important weight given to anatomical barriers, due to rooting failure, was greatly reduced, in addition to the morphological reference markers having been clearly established. The results indicated by the histological analyzes brought important insights and contributions for both species, rhizogenesis has barriers, but these are not necessarily anatomical. In *A. mearnsii*, it was verified that the absence of tissue appears as a barrier, after the proliferation of fungi, and in *I. paraguariensis*, the presence of starch in abundance was remarkable in clones with greater rooting competence. The formation of adventitious roots in both species follows a similar pattern, from cell recruitment, callus formation, adventitious vascularization, characterizing the formation of functional roots as an indirect pattern.

Key words: forest species, adventitious root; clonal propagation; barriers; fungus.

INTRODUÇÃO

A maioria das espécies florestais é propagada por mudas. A propagação sexuada resulta em populações altamente variáveis para características importantes, como altura da planta, diâmetro e potencial produtivo, que dificultam o uso de práticas de manejo adequadas. A propagação assexuada é a melhor escolha para espécies cuja produção de mudas é prejudicada, seja pela disponibilidade de sementes ou qualidade. A propagação assexuada resulta em populações altamente uniformes e fixa combinações favoráveis de características, altos níveis de heterozigosidade e interações superiores de variância genética (BISOGNIN, 2011). Dentre as técnicas de propagação assexuada, as estacas são amplamente utilizadas para propagação de espécies hortícolas e florestais, por ser uma técnica eficiente para maximizar o ganho genético (NAIDU; JONES, 2016). As estacas são preparadas a partir do caule, folha ou raiz, sendo as estacas do caule as mais amplamente utilizadas.

Miniestacas é uma variação da técnica de estacas. A miniestaquia é a técnica mais importante para a clonagem de espécies florestais, conforme demonstrado no gênero *Eucalyptus* (NAIDU; JONES, 2016), com protocolo bem estabelecido e amplamente utilizado comercialmente por empresas florestais (LIMA et al., 2022). Tem sido usado com sucesso para melhorar a capacidade de enraizamento de espécies florestais como *Pinus pinaster* (MAJADA et al., 2011). Protocolos experimentais foram desenvolvidos para outras espécies, incluindo *Ilex paraguariensis*, espécie nativa do Brasil (PIMENTEL et al., 2019). O sucesso do uso da tecnologia de miniestacas está diretamente associado à competência para o desenvolvimento de um sistema radicular adventício.

A formação de raízes adventícias é um processo altamente controlado, incluindo desdiferenciação e formação de células fundadoras, divisão celular e formação de primórdios e crescimento de raízes adventícias (LAKEHAL; BELLINI, 2019). A formação de raízes acidentais tem um componente genético, dependendo das espécies e genótipos dentro das espécies, e um componente ambiental. Diferenças genéticas entre clones têm sido relatadas na literatura, quanto à competência de enraizamento em *Eucalyptus* (NAIDU; JONES, 2016) e *Cabralea canjerana* (BURIN et al., 2020), e no tempo ótimo para enraizamento de miniestacas em híbridos de *E. benthamii* x *E. dunnii* (BRONDANI et al., 2012) e *Sequoia sempervirens* (PEREIRA et al., 2018).

Condições ambientais associadas à mudança de estação afetam o rendimento de miniestacas e a competência de enraizamento, como demonstrado em *Olea europaea* (CASARIN et al., 2017) e *S. sempervirens* (PEREIRA et al., 2018). A temperatura e a luz do

dia aumentam durante a primavera e o verão, melhorando o crescimento e o desenvolvimento das plantas e a síntese de auxinas (WIT et al., 2014). A auxina é o principal tipo de hormônio associado ao processo de enraizamento adventício, sendo o ácido indol acético (IAA) o mais importante (LAKEHAL; BELLINI, 2019). Um aumento na concentração de IAA 6 horas após a excisão de miniestacas foi relatado em *Pisum sativum*, sendo uma indicação de competência de enraizamento (RASMUSSEN et al., 2015). A aplicação de auxinas, principalmente ácido indol butírico (IBA), tem sido indicada para melhorar o enraizamento adventício de *Schizolobium parahyba* (LIMA et al., 2019) e *Zizyphus jujuba* (SHAO et al., 2018).

O metabolismo vegetal afeta o acúmulo de reservas nos tecidos vegetais necessários para o enraizamento adventício. A formação de calos foi associada ao consumo de açúcar solúvel e proteína, e o enraizamento adventício com acúmulo de açúcar solúvel e proteína em *Zizyphus jujuba* (SHAO et al., 2018). Mudanças anuais nas concentrações de açúcares solúveis e proteínas foram observadas em tecidos foliares e da casca de *Olea europaea* (ERIS et al., 2007). A presença de folhas melhora o enraizamento de miniestacas (HARTMANN et al., 2011), mas sua redução à metade da área original foi indicada para a propagação de *I. paraguariensis* por miniestacas de gema simples (PIMENTEL et al., 2020). Nesta espécie, foi encontrada uma relação inversa significativa entre diâmetro e porcentagens de sobrevivência e enraizamento (GAZZANA et al., 2020a).

Estamos explorando o componente genético selecionando genótipos com competência de enraizamento adventício de miniestacas para maximizar o ganho com a seleção. Também realizamos tecnologia de clonagem e estudos histológicos durante esse processo de algumas espécies florestais. *Acacia mearnsii* é uma árvore fabacea nativa da Austrália. Possui grande importância econômica e social no Rio Grande do Sul, onde é cultivada para extração de tanino e produção de celulose e energia. *Ilex paraguariensis* é uma árvore aquifoliácea que ocorre naturalmente no sul do Brasil. Seus galhos finos e folhas são a principal matéria-prima para a indústria que possui requisitos específicos de qualidade e demanda um fornecimento contínuo (GAZZANA et al., 2020b). A propagação clonal resulta em populações altamente uniformes que podem atender às demandas específicas da indústria. Além de manter a uniformidade em diferentes condições de solo, clones de *Eucalyptus* apresentaram rendimento e qualidade de madeira semelhantes (MAIDANA et al., 2022).

O enraizamento adventício é um evento biológico comumente tratado em termos histológicos. A histologia, anatomia, ou estudos estruturais de maneira ampla, seguem sendo extremamente importantes, pois, considerando a produção vegetal, o enraizamento adventício oriundo de experimentação segue sendo uma manifestação estrutural (LOVELL; WHITE

1986). O histórico de estudos histológicos e anatômicos estabeleceu bases que melhoraram a compreensão sobre o enraizamento adventício. Neste contexto, a análise dos potenciais de enraizamento em função da própria estrutura dos caules é marcante, principalmente no que diz respeito às barreiras anatômicas. O estudo de Sachs et al. (1964), entre outros (AMISSAH et al. 2008; MONDER et al. 2019), reforçou a necessidade dos estudos histológicos, uma vez que um peso importante que se dava às barreiras anatômicas, pelo insucesso do enraizamento, foi muito reduzido, além dos marcadores morfológicos de referência terem sido claramente estabelecidos.

O objetivo foi realizar estudos histológicos para trazer novos insights de como as barreiras podem afetar o enraizamento adventício de miniestacas de *A. mearnsii* e *I. paraguariensis*.

MATERIAL E MÉTODO

Os experimentos foram conduzidos com propágulos coletados no minijardim clonal instalado em casa de vegetação climatizada do Centro de Melhoramento Vegetal e Propagação Vegetativa (MPVP), Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria (RS), Brasil. Os minijardins clonais de *A. mearnsii* e *I. paraguariensis* foram implantados em bancadas, em sistema fechado de cultivo sem solo, tendo como substrato areia grossa e solução nutritiva fornecida ao canteiro por fertirrigação por inundação. As práticas de composição, distribuição e manejo da solução nutritiva foram descritas em Gazzana et al. (2020b).

Preparo e cultivo das miniestacas

Brotos de comprimento adequado foram coletados das minicepas de *A. mearnsii*. As miniestacas foram preparadas seccionando a parte aérea em gemas únicas e as folhas reduzidas a 50% da área original. As miniestacas foram tratadas com solução hidroalcoólica (1:1) de ácido indolbutírico (IBA) na concentração de 2.000 mg L⁻¹, por 10 segundos, conforme definido em estudos preliminares. Algumas miniestacas de *I. paraguariensis* não foram tratadas com AIB. As miniestacas foram cultivadas em bandejas de 100 alvéolos, contendo proporções iguais de substrato comercial à base de casca de pinus, vermiculita média e areia grossa. Eles foram colocados em uma bancada dentro de uma câmara de umidade, com umidade relativa mantida acima de 95% por nebulização automatizada. As

miniestacas de *I. paraguariensis* foram coletadas aos 0, 30 e 60 dias e de *A. mearnsii* aos 0, 5, 10 e 15 dias de câmara de cultivo para avaliações anatômicas e histológicas.

Preparo das amostras

A região basal das miniestacas foi primeiramente seccionada em pedaços de aproximadamente 1 cm. Os cortes à mão livre foram feitos com o auxílio de uma lâmina de barbear. As amostras foram fixadas em duas soluções químicas distintas, uma contendo 3% de glutaraldeído e 0,1 M de tampão fosfato de sódio com pH 7,2 (MCDOWELL; TRUMP, 1976; GABRIEL, 1982), ou a outra com uma solução de 6% de glioxal e o mesmo tampão (DAPSON, 2007). As amostras foram então lavadas uma vez por 15 minutos no mesmo tampão e depois em água destilada uma vez por 15 minutos.

As amostras foram mantidas em rotação em microcentrífuga por cinco a sete dias em tubos contendo 2 mL L⁻¹ de Tween20, ou solução de Extran 5% para remover ceras epicuticulares e quaisquer substâncias lipofílicas para facilitar a posterior infiltração em 2-hidroxiethyl metacrilato (HEMA). As amostras foram desidratadas em série de álcool etílico (O'BRIEN; McCULLY, 1981), pré-infiltradas em HEMA e solução de etanol absoluto (1:1) durante 12 h, seguidas de infiltração em HEMA por aproximadamente 4 h, e encaixá-los em um suporte de Teflon até completar a polimerização (GERRITS; MID, 1983).

As amostras foram seccionadas em 3, 4 e 5 µm de espessura usando um micrótomo rotativo Leica RM2245. As lâminas histológicas foram coradas com azul de toluidina em tampão benzoato de sódio 0,05% e pH 4,4 (SIDMAN et al., 1961). Compostos fenólicos totais foram detectados com azul de toluidina (O'BRIEN et al., 1964), amido com solução de lugol (JOHANSEN, 1940), polissacarídeos totais com reagente de Schiff e ácido periódico (O'BRIEN; McCULLY, 1981), e substâncias lipofílicas com Sudan 7B (BRUNDRETT et al., 1991) combinado com azul de toluidina.

Para a identificação da podridão, miniestacas sintomáticas de *A. mearnsii* foram desinfetadas em solução de etanol 70% seguida de hipoclorito de sódio 2%. As miniestacas foram transferidas para placas de Petry contendo meio de ágar batata dextrose, seladas e cultivadas na temperatura de cerca de 25°C no escuro até a esporulação.

Análise microscópica e documentação de imagens

A documentação e análise fotográfica foram feitas com microscópio Leica® DM 2000

e M80 com sistema de captura de imagem DFC295 e microscópio Zeiss AxioImager A2 com sistema de captura digital Zeiss MCr e software ZEN (Zeiss™). O registro fotomicrográfico foi realizado com o auxílio da câmera Canon Rebel T5i com lentes macro 150mm.

Metodologia de identificação fúngica

Miniestacas foram desinfestadas inicialmente com álcool 70% e após, com uma solução de NaClO a 50% por 1 minuto. Após foram colocadas em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar). As placas foram incubadas a 25°C por 48 horas e fotoperíodo de 12 hs. Após o período de incubação, as miniestacas foram observadas em microscópio estereoscópico Olympus SZ51 e para a identificação das estruturas fúngicas foram confeccionadas lâminas que foram observadas em microscópio ótico Zeiss Primo Star.

RESULTADOS

Aspectos gerais das miniestacas no tempo zero

Em secções transversais, a base das miniestacas de *A. mearnsii* apresentam uma estrutura combinada de tecidos primários e secundários. Os tecidos primários são epiderme, tecido fundamental na região cortical e periciclo, floema e xilema e mais internamente a medula (Figura 1A,B). O tecido secundário é representado pelo câmbio, floema e xilema secundários (Figura 1B).

Em função dos resultados que serão apresentados a seguir, devem receber destaque a região cortical, periciclo esclerificado e lignificado, floema primário e secundário. A partir destas regiões e respectivos tecidos ocorre à formação dos calos, através dos quais se estabelece a conexão vascular das raízes adventícias com o tecido vascular caulinar bem como o recrutamento de células para a formação das raízes adventícias. Assim, a camada cortical mais externa é tipicamente composta por colênquima que alterna com clorênquima (Figura 1A,B). Internamente, se diferencia tecido parenquimático em uma ou poucas camadas (Figura 1B). A endoderme é composta por uma camada de células com estrutura parenquimática, sendo diversas de suas células idioblastos cristalíferos (Figura 1B). Mais internamente segue o periciclo composto por fibras septadas e esclereides, ambas usualmente vivas (Figura 1C).

A esclerificação e lignificação das fibras é centrípeto e gradual e as células estão vivas na maioria das miniestacas e a quantidade de células pode ser alta em entrenós jovens. Mesmo

com relativa lignificação, as fibras se dividem transversalmente, tornam-se septadas nas quais é possível distinguir aspectos básicos como citoplasma, vacúolos e núcleo, além de paredes transversais pecto-celulósicas (Figura 1C). Embora o periciclo seja contínuo, a esclerificação e lignificação das células não ocorre em todas as células, as quais mantêm estrutura parenquimática (Figura 1B).

FIGURA 1 – Seções transversais (A, B) e longitudinal (C) do caule do clone B5 de *Acacia mearnsii* no tempo zero.

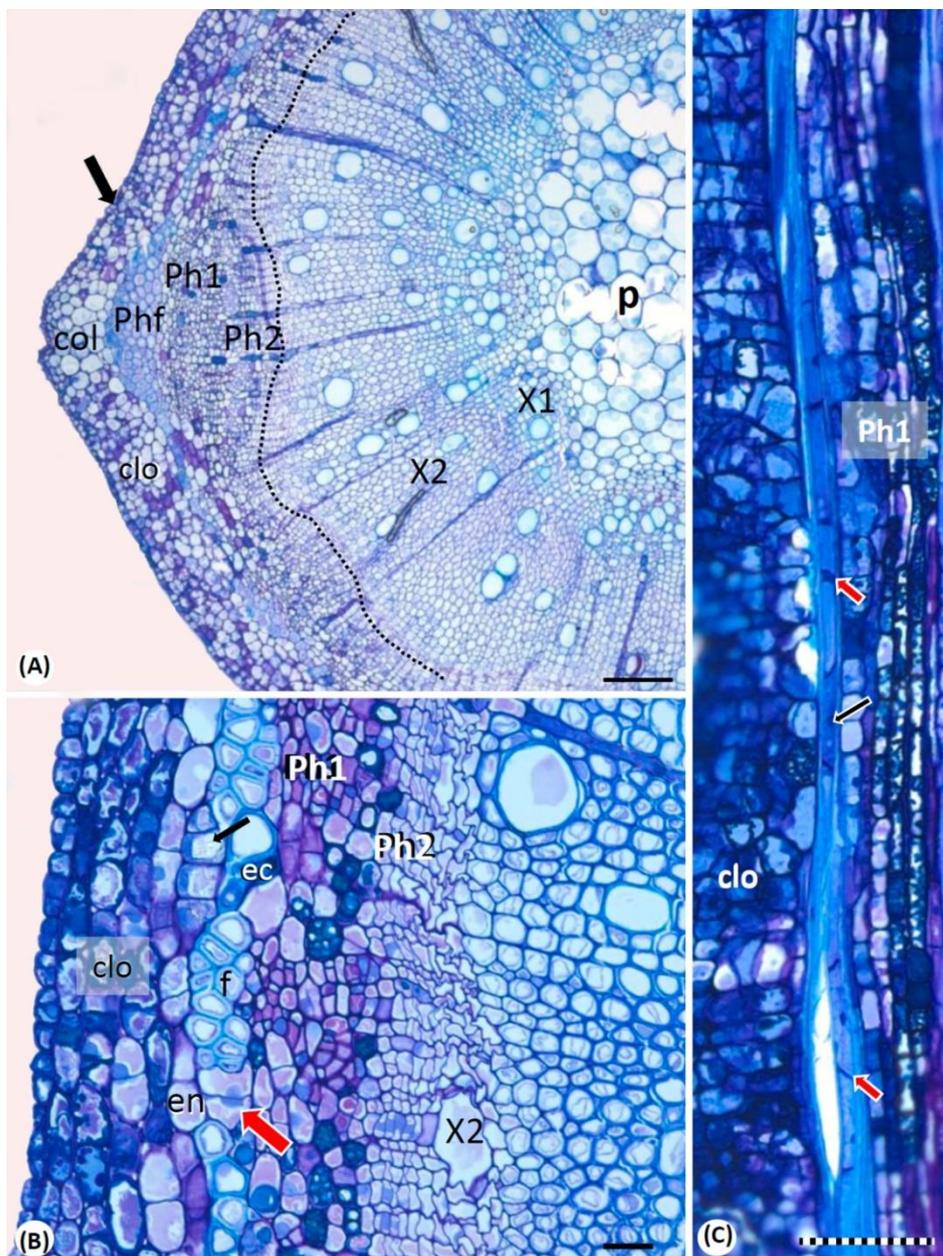


FIGURA 1 – Seções transversais (A, B) e longitudinal (C) do caule do clone B5 de *Acacia mearnsii* no tempo

zero: (A) Aspecto geral com indicações de diferentes tecidos primários e secundários. (B) Detalhe com ênfase a região de esclerênquima pericíclico descontínuo contendo fibras (f), esclereides (ec) e células com estrutura parenquimática (seta vermelha). Seta preta indica idioblasto cristalífero na endoderme (en). (C) Detalhe de uma porção da região cortical e vascular separadas por fibras septadas com ênfase às paredes transversais (setas vermelhas) e núcleos (setas pretas). Designação dos sinais: col, colênquima; clo, clorênquima; Pf, feixe de fibras do floema; P1, floema primário; P2, floema secundário; X2, xilema secundário; X1, xilema primário; p, medula; seta, epiderme; linha pontilhada, câmbio vascular. Barras de escala, 50 µm.

A estrutura do caule de *Ilex paraguariensis*, dentre as miniestacas utilizadas, sempre se apresentam com xilema e floema secundários, embora com pequeno acúmulo de tecidos, portanto, ainda apresenta todos os tecidos primários (Figura 2A), podendo, em alguns casos, ainda apresentar de aspectos gerais de órgão primário. Seguindo o contexto do presente estudo, é importante salientar a estrutura da epiderme, esclerênquima pericíclico, região cortical e floemas primário e secundário (Figura 2A,D).

Assim, no momento em que são produzidas as miniestacas se observa que a epiderme possui uma única camada de células. Na região cortical são observados uma camada de clorênquima, e mais internamente tecido parenquimático (Figura 2A,B), tendo seu limite interno na endoderme (Figura 2A,B,D). O esclerênquima pericíclico, de maneira geral não é contínuo (Figura 2C,D), sendo composto por fibras e esclereides (Figura 2B,D). A espessura deste esclerênquima varia em uma a seis camadas, alternando com células com estrutura parenquimática ou idioblastos cristalíferos (Figura 2C,D). A região do floema, abrangendo tecidos primários e secundários, possui muitas células parenquimáticas e células companheiras (Figura 2C,D). Grão de amidos são identificados em pequenas quantidades no clorênquima, endoderme, raios do xilema e região medular.

FIGURA 2 – Seções transversais (A, B) e longitudinais (C, D) de caules dos clones 10SM07 e 06SM15 de *Ilex paraguariensis* no tempo zero.

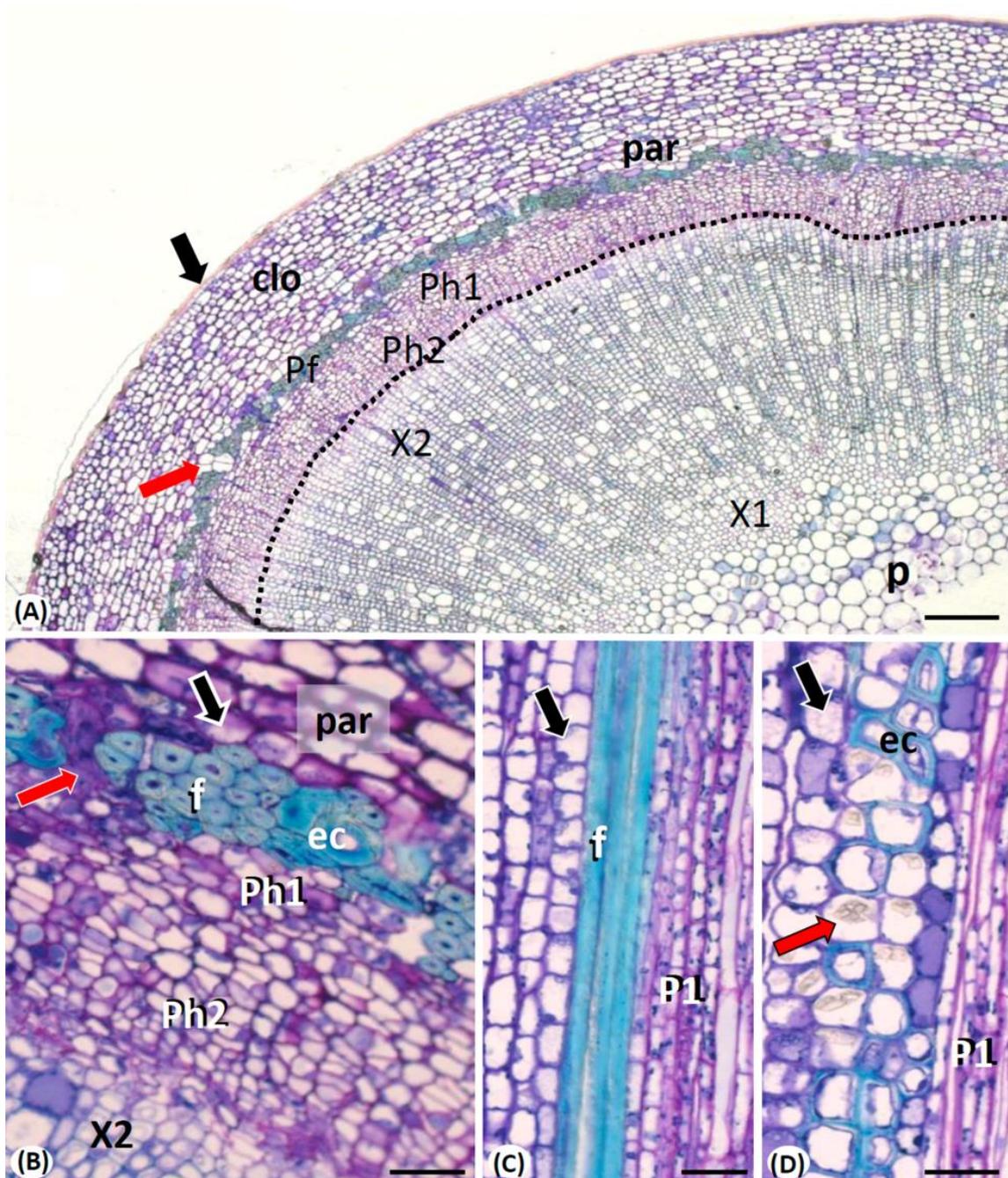


FIGURA 2 – Seções transversais (A, B) e longitudinais (C, D) de caules dos clones 10SM07 e 06SM15 de *Ilex paraguariensis* no tempo zero. A, C e D, Clone 10SM07; B, Clone 06SM15. (A) Aspecto geral do caule apresentando tecidos primários e secundários. (B) Detalhe de porção do esclerênquima pericíclico com ênfase ao parênquima externo (par) e floema interno (P1, P2) e a descontinuidade da esclerificação (seta vermelha). (C) Detalhe de fibras (f) da região pericíclica. (D) Detalhe de esclereídes (ec) da região pericíclica. Designação dos sinais: clo, clorênquima; par, parênquima; Phf, fibras de floema primário; f, fibras pericíclicas; ec, esclereídes; Ph1, floema primário; Ph2, floema secundário; X2, xilema secundário; X1, xilema primário; p, medula; seta vermelha, descontinuidade do esclerênquima; linha pontilhada, câmbio vascular. Barras de escala, 50 μ m.

O processo de enraizamento adventício das miniestacas

Dentre os clones avaliados de *A. mearnsii* é possível observar uma nítida reação ao cultivo nas primeiras 20 a 26 horas. A endoderme é o tecido que responde inicialmente com desdiferenciação e proliferação celular, embora células do floema primário também possam responder (Figura 3A) ou apenas proliferação celular (Figura 3B) tanto em caules primários quanto secundários. Tal proliferação, em diversas amostras, ocorreu sem o devido acompanhamento da porção externa do córtex e da epiderme, sendo que tais tecidos acabaram sendo comprimidos, havendo, nesses locais, extensa acumulação de compostos fenólicos e restos de tecido (Figura 3B). Nos locais onde foram observadas reações no floema primário, foi comum a descontinuidade do esclerênquima (Figura 3A).

De maneira geral, após um processo inicial de proliferação de células endodérmicas em *A. mearnsii*, a região de floema, por meio dos tecidos primário e secundário, também contribui ativamente com novas células. Assim, aos 30 dias de cultivo, o processo de proliferação do floema, juntamente com o tecido cortical, gerou consequências estruturais importantes ao processo, havendo projeção de tecido novo entre grupamentos de esclerênquima e formação de tecidos condutores, os quais já se mostram conectados ao tecido vascular caulinar (Figura 3C). As células, de endoderme e floema, em torno dos grupamentos esclerenquimáticos se mantêm divisíveis (Figura 3D). A partir dos tecidos derivados de floema e endoderme, ocorre à diferenciação de grupamentos de elementos vasculares (Figura 3C) e raízes já estão formadas (Figura 3D).

FIGURA 3 – Seções transversais na região da base das miniestacas de clones de *Acacia mearnsii*.

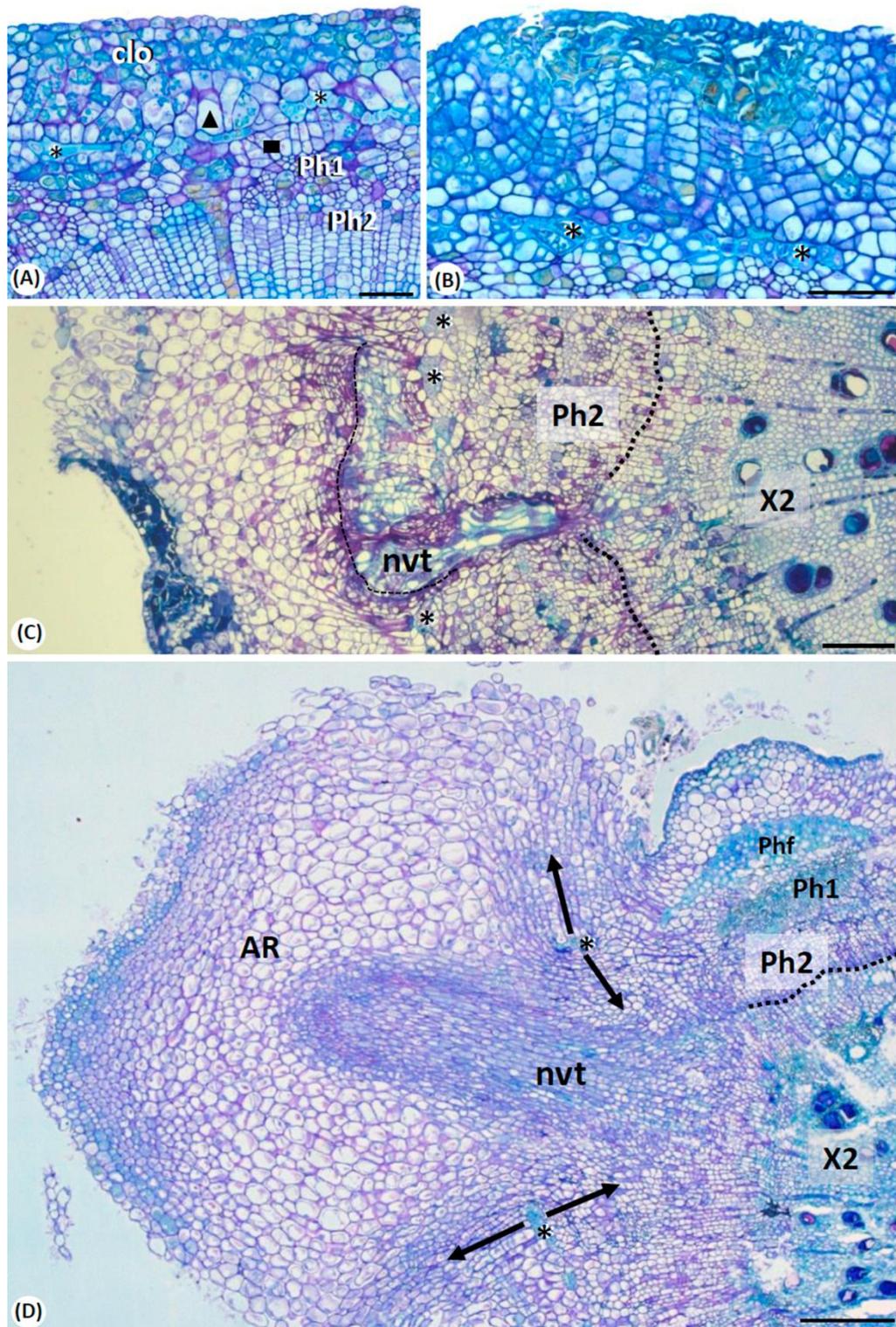


FIGURA 3 – Seções transversais na região da base das miniestacas de clones de *Acacia mearnsii*. (A) Clone A1845 após 24 horas de cultivo. Triângulo preto, endoderme reagindo ao cultivo; quadrado preto, células de floema primário reagindo ao cultivo. (B) Clone AB6 após 24 horas de cultivo. (C) Clone B5 após 30 dias de cultivo. Tecido vascular neoformado (nvt) possui uma linha de câmbio através das regiões vascular e cortical

(linha tracejada). (D) Clone B5 após 30 dias de cultivo apresentando região com raiz adventícia (AR) e conexão vascular estabelecida (nvt). Grupamentos de fibras (asterisco) muito afastados com espaço preenchido com tecidos neoformados. Setas indicam direção de proliferação a partir de grupamentos de fibras. Designação dos sinais: Phf, fibras de floema primário; Ph1, floema primário; Ph2, floema secundário; X2, xilema secundário; X1, xilema primário; p, medula; linha pontilhada, câmbio vascular. Scale bars, A – C 50 μm , D 200 μm .

Esse processo ocorre antes de 30 dias, embora material não tenha sido coletado e o período exato seja ainda desconhecido. Em amostras do clone AB6 de *A. mearnsii* foi comum apenas a reação da região cortical ao cultivo (Figura 4A), sem haver impedimento da formação de raízes (Figura 4B). Embora os volumes de tecido fundamental entre grupamentos de esclerênquima tenham sido menores, houve diferenciação de elementos condutores entre as raízes adventícias e o tecido vascular caulinar (Figura 4B). Além disso, na região de conexão vascular entre raízes adventícias e caule a atividade cambial é perdida (Figura 3D). A compreensão de como espacialmente se diferenciam os grupamentos vasculares no calo é pequena, em função da perda de uma orientação dentro dos planos axial e radial de simetria do corpo.

FIGURA 4 – Seções transversais na região da base das miniestacas do clone AB6 de *Acacia mearnsii*.

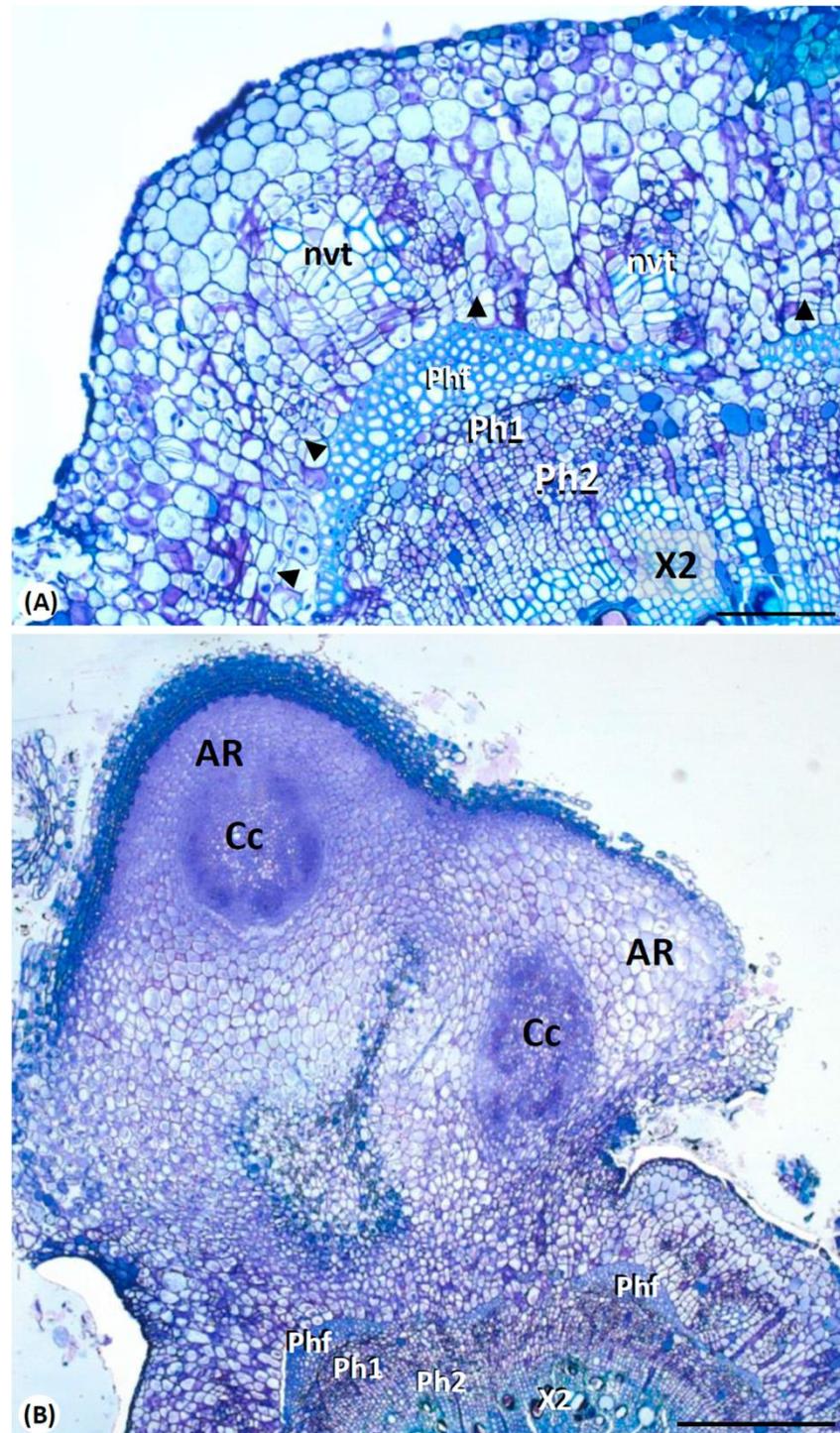


FIGURA 4 – Seções transversais na região da base das miniestacas do clone AB6 de *Acacia mearnsii*. (A) 30 dias de cultivo. Tecido vascular neoformado (nvt) na região cortical. (B) Aspectos geral apresentando região com emissão de duas raízes adventícias (AR). Designação dos sinais: Triângulo preto, endoderme reagindo ao cultivo; Phf, fibras de floema primário; Ph1, floema primário; Ph2, floema secundário; X2, xilema secundário; Cc, cilindro central. Scale bars, A 100 μ m, B 200 μ m.

Dissolução de tecidos

O processo de enraizamento de estacas de *A. mearnsii* (Figura 5A) pode ser acompanhado pela proliferação de hifas de *Cylindrocladium sp.* (Figura 5B,C) e extensa cultivada de tecidos, principalmente do câmbio vascular (Figura 5A,F), que pode ser observada em 48 horas após o início do cultivo (Figura 5D). As hifas podem ser observadas tanto nos espaços onde já houve produção de tecidos, quanto dentro de células (Figura 5E). Conseqüentemente, ocorre uma descontinuidade entre os tecidos que flanqueiam o câmbio, ambos vivos, por onde seriam construídas as conexões vasculares com as raízes adventícias (Figura 5F). Essa dissolução tecidual é acrópeta (Figura 5A), que acaba sendo colonizada em toda ou quase toda a circunferência. Nos indivíduos afetados é comum que a emissão de raízes ocorra muito acima da região basal da miniestaca (Figura 5A), além de ocorrer, emissão de poucas raízes voltadas para uma mesma direção ou, ainda, a emissão de uma única raiz (Figura 5A).

FIGURA 5 – Vista lateral (A,B) e seções transversais de miniestacas (C-F) de clones de *Acacia mearnsii*.

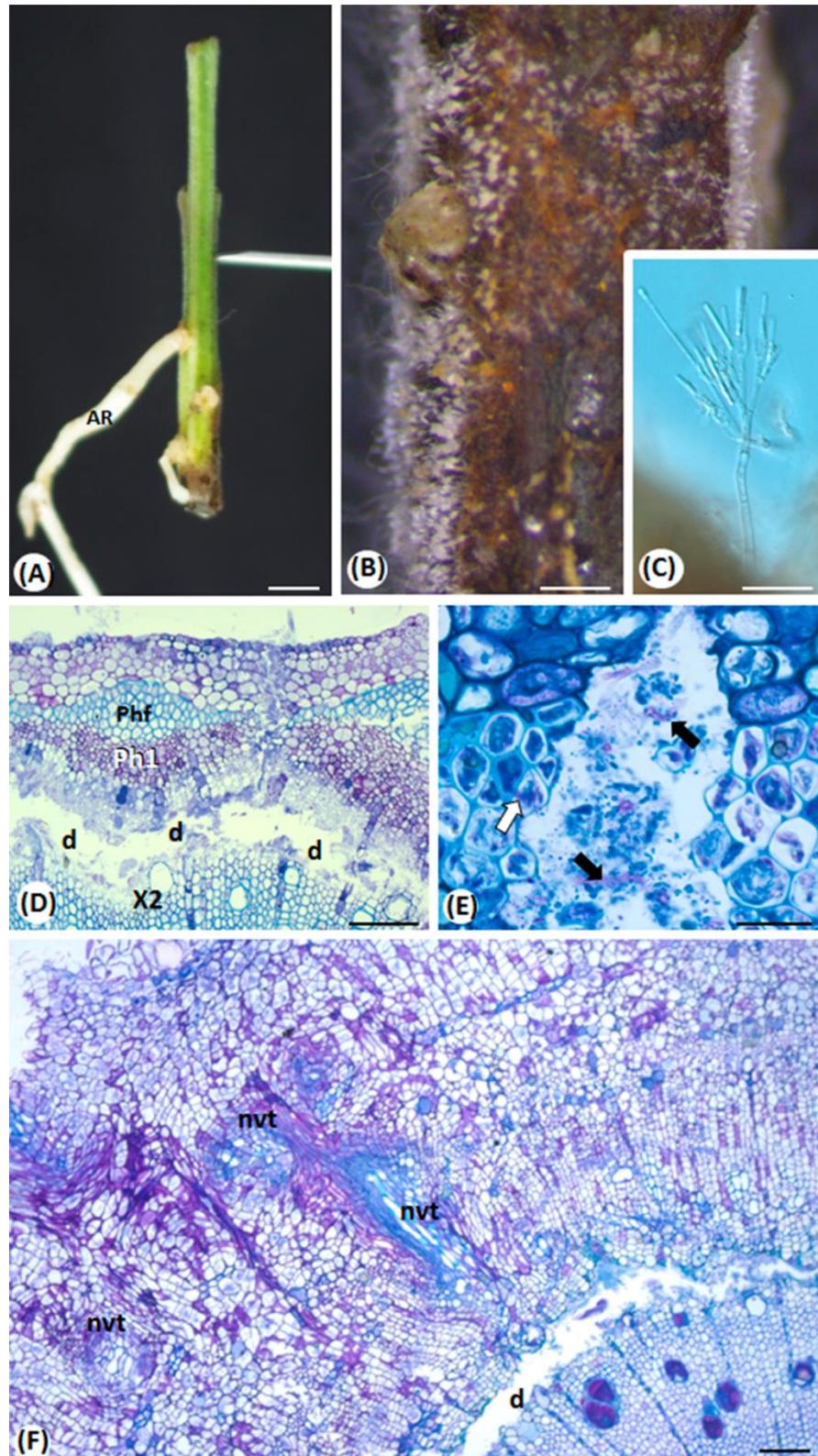


FIGURA 5 – Vista lateral (A,B) e seções transversais de miniestacas (C-F) de clones de *Acacia mearnsii*. (A) Clone B5 aos 30 dias de cultivo. (B) Aspecto geral de miniestaca com presença de esporulação de *Cyindrocladium* spp. (C) Conidióforos e conídios de *Cyindrocladium* spp sob contraste diferencial e

interferência. (D) Clone B5, 48 horas de cultivo apresentando dissolução da região cambial (d). Clone B5 aos 30 dias de cultivo com dissolução de região cambial (d). (E) Clone AB6, detalhe de região infectada com presença de hifas extracelulares (setas pretas) e hifas intracelulares (seta branca). (F) Clone B5 aos 30 dias de cultivo com dissolução de região cambial (d). Designação dos sinais: AR, raiz adventícia, Phf, fibras de floema primário; Ph1, floema primário; Ph2, floema secundário; X2, xilema secundário. Scale bars, A 200 μm , B 500 μm , C 50 μm , D 50 μm , E 25 μm , F 50 μm .

Em *I. paraguariensis*, ambos os clones 06SM15 e 10SM07 avaliados apresentaram três pontos em comum, sendo estes a) ambos produziram raízes, b) processos idênticos de calogênese e de diferenciação das raízes adventícias, e que c) as raízes sempre se formavam na base das miniestacas, ou seja, através das regiões expostas pelo corte no momento da confecção das miniestacas (Figura 6). Em raras situações houve emissão combinada de raízes adventícias acima da região do corte e, portanto, através da região cortical e epiderme (Fig. 6B) apresentando aspectos de rizogênese direta.

O processo inicial de diferenciação das miniestacas em *I. paraguariensis* é marcado por proliferação celular em ambas as faces do esclerênquima pericíclico, principalmente células dos floemas primário e secundário e células da porção interna da região cortical incluindo a endoderme (Figura 6C). A rápida proliferação sempre produz dois efeitos. Um deles, macromorfológico, que torna a base das miniestacas volumosas (Figura 6B). O segundo efeito, histológico, é o da descontinuidade do esclerênquima pericíclico, descontinuidade esta preenchida sincronamente pelos tecidos cortical e floemático, já citados (Figura 6C). Assim, as regiões cortical e vascular, anteriormente isoladas (Figura 2A), se tornam contínuas.

De maneira geral, os tecidos corticais reagem no primeiro milímetro a partir do ferimento em conjunto com tecidos floemáticos. Acima, a principal contribuição aos calos será apenas floemático. Células destes tecidos novos são recrutadas e se diferenciam em elementos condutores que irão conectar as raízes adventícias aos tecidos condutores caulinares (Figura 6C, D), tendo o processo sido concluído antes de 30 dias de cultivo.

FIGURA 6 – Vistas laterais de caules do clone 13SM05 (A)(B) e seções longitudinais de caules do clone 10SM07 (C)(D) de *Ilex paraguariensis* aos 30 dias de cultivo.

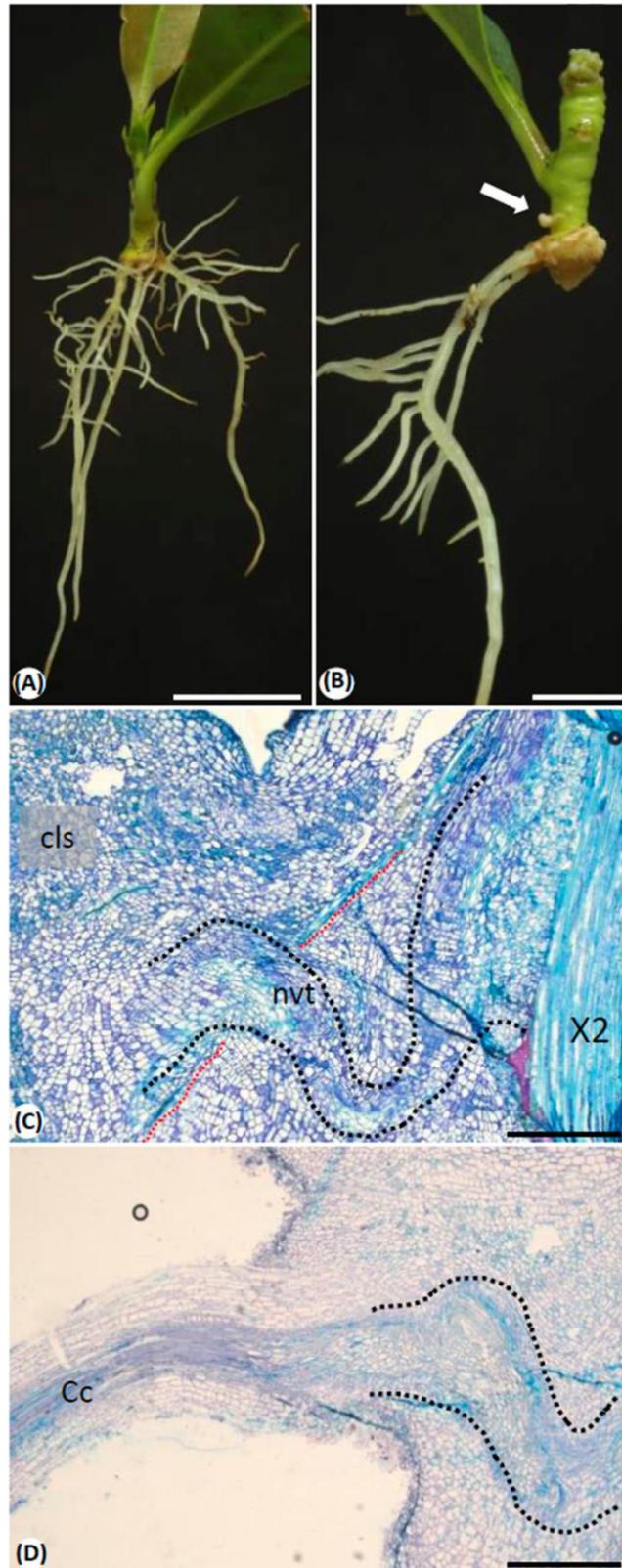


FIGURA 6 – Vistas laterais de caules do clone 13SM05 (A)(B) e seções longitudinais de caules do clone 10SM07 (C)(D) de *Ilex paraguariensis* aos 30 dias de cultivo. (A) Raízes adventícias emergidas da base na

miniéstaca. (B) Raízes adventícias emitidas na base de miniéstaca e raiz adventícia emitida acima da base (seta). (C) Linhas pontilhadas indicam continuidade de tecidos vasculares neoformados através de grupamentos de esclerênquima conectando o calo aos tecidos vasculares caulinares. (D) Linhas pontilhadas indicam continuidade de tecidos vasculares neoformados através no calo com cilindro central (Cc). Designação dos sinais: linhas pontilhadas em vermelho, fibras pericíclicas; nvt, tecido vascular neoformado; X2, xilema secundário; cls, calo. Barras de escala, A, B 10 mm, C, D 400 μ m.

Detecção de grãos de amido

Em *A. mearnsii* os grãos de amido foram poucos e polissacarídeos totais não foram observados nos tecidos fundamentais tanto pré (broto) quanto neoformado (calo), independentemente da competência de enraizamento do clone estudado (Figura 7A, B). No clone 06SM15 de *I. paraguariensis* com maior competência de enraizamento, a presença de grandes quantidades de grãos de amido nas células foi generalizada nos tecidos pré e neoformados (Figura 7C), ao contrário dos clones com menor competência de enraizamento (Figura 7D). Grãos de amido acumulados nos tecidos pré e neo formados. Em ambas as espécies estudadas, não houve acúmulo de polissacarídeos nos vacúolos.

FIGURA 7 – Seções transversais *Acacia mearnsii* (A, B) e *Ilex paraguariensis* (C, D).

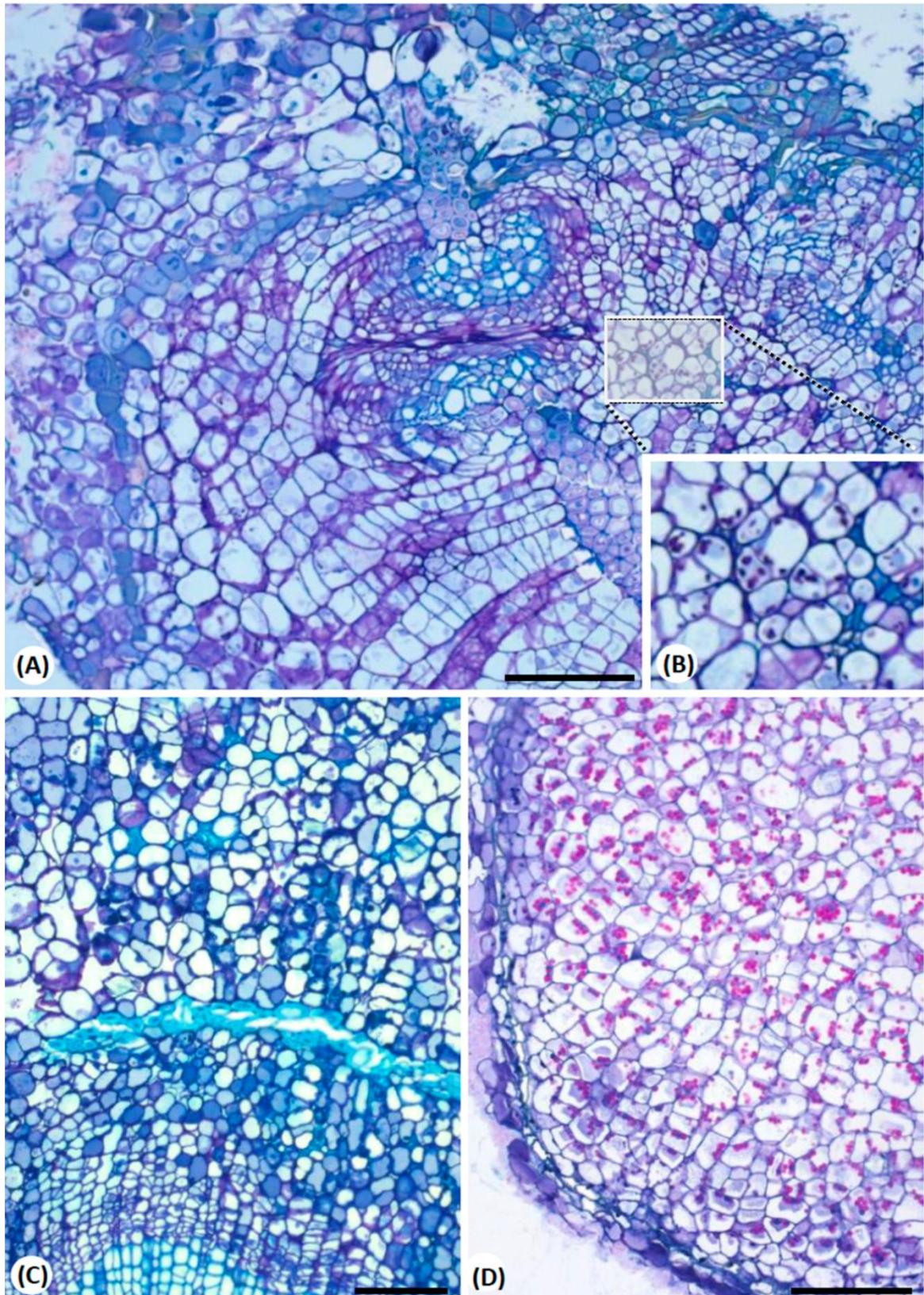


FIGURA 7 – Seções transversais. (A)(B) *Acacia mearnsii*. (C)(D) *Ilex paraguariensis*. (A) Clone B5. Aspecto geral de uma região de caule com presença de calo. Apresenta poucas células com grãos de amido. Retângulo indica um local de ocorrência de células amilíferas derivadas de calogênese do floema. (B) Detalhe de células

amilíferas (seta). (C) Detalhe de região caulinar após calogênese no clone 10SM07 com tecidos isentos de amido. (D) Detalhe de uma porção de calo no clone 06SM15 com tecidos contendo grande quantidade de células amilíferas (setas). Barras de escala A, C 200 μm , D 400 μm .

DISCUSSÃO

Aspectos gerais das miniestacas no tempo zero

Com relação aos aspectos anatômicos, se salienta que os caules de *I. paraguariensis* e *A. mearnsii* são muito similares, inclusive nos estágios de desenvolvimento dos entrenós no momento da implantação dos minijardins. Alguns aspectos celulares e citológicos variam, principalmente quanto à distribuição dos tecidos na região cortical e a esclerificação e lignificação no periciclo e fibras de floema primário.

As miniestacas de ambas as espécies possuem as regiões cortical e floema, que são células estoque-totipotentes muito relevantes. A hiperplasia do floema é essencial para o rompimento da banda pericíclica esclerificada que se move para fora do periciclo.

O processo de enraizamento adventício das miniestacas

A análise histológica permitiu descrever a formação de raízes adventícias onde o processo se inicia com a perda total da continuidade do esclerênquima pericíclico e que, entre seus restos, se estabelece tecido parenquimático, essencial para a difusão vascular. A consideração é importante, pois para várias espécies a continuidade e/ou presença de tecido esclerificado e lignificado foi indicada como uma característica que reduz o potencial de enraizamento. Nesse contexto, costuma ser tratado como uma barreira anatômica. Aparentemente, a diferença fundamental e decisiva para o efeito negativo de tal barreira seria a manutenção de sua continuidade, que inicialmente não é afetada em casos de enraizamento direto.

Nos casos do presente estudo há uma camada esclerenquimática descontínua na região pericíclica dos entrenós, descontinuidade esta ampliada essencialmente em função da formação de calo. A descontinuidade do esclerênquima é uma variação de três possibilidades, considerando-se também o esclerênquima contínuo (BRYANT; TRUEMAN, 2015) ou ausente (HARBAGE et al. 1993; AHKAMI et al. 2009). Diferentes autores (BEAKBANE, 1961; GOODING 1965) consideram a camada esclerificada como fator redutor do potencial

rizogênico, inclusive para *A. mearnsii* (BEAKBANE, 1961), atuando, portanto, como uma barreira ao enraizamento. No presente estudo não há qualquer evidência de seus efeitos nos potenciais rizogênicos de clones já experimentados, em ambas as espécies, principalmente naqueles considerados de baixo potencial. Altamura (1996), de maneira geral, considera que nas espécies de maior potencial rizogênico a barreira esclerenquimática pode estar presente, porém descontínua, ao comparar tais potenciais nas espécies cuja camada esclerenquimática é contínua. A perda de continuidade de tecido esclerificado periférico pode ser obtida por aspectos do cultivo que induzem proliferação e crescimento celulares como exposição à névoa e tratamento hormonal (SACHS et al., 1964), ou apenas aplicação de hormônio (ALTAMURA, 1996) aumentando potenciais locais de vascularização e/ou emergência de raízes. Sachs et al. (1964), apresenta, como parte de sua argumentação contra a camada esclerenquimática ser a causa do não enraizamento ou redutor do potencial, que a estrutura da estaca não possui qualquer barreira na região do corte, sendo este o local a partir do qual raízes poderiam emergir, tendo sido comprovada, tal possibilidade em *Anacardium occidentale* (JÁSÍK; KLERK, 1997), em *Olea europae* (ALTAMURA, 1996), *Coffea robusta* (REAÑO, 1940) e *Dianthus caryophyllus* (STANGLER, 1956), onde “os primórdios da raiz são iniciados, crescem dentro da faixa de fibra e emergem pela base cortada” (LOVEL; WHITE, 1986).

A proliferação de tecido cortical e floema é relativamente discreta nas espécies estudadas, principalmente em *A. mearnsii*, e a rizogênese é, portanto, indireta e passa necessariamente pelas etapas de estimulação rápida, reação tecidual com proliferação e desdiferenciação, formação de meristemóides, diferenciação inicial de raízes adventícias e diferenciação de tecido condutivo, que é concomitante com o crescimento de raízes adventícias. Além disso, o processo é acropeticamente ativo e formam-se séries verticais, relativamente mais longas em *A. mearnsii*. Nesse contexto, naqueles genótipos com menor competência de enraizamento, se o enraizamento for indireto e a barreira anatômica tornar-se descontínua e houver preenchimento tecidual, é possível que a barreira anatômica, ou barreira estrutural, não exista.

A anatomia dos respectivos clones de *I. paraguariensis* e de *A. mearnsii* de fácil e, relativamente, de difícil enraizamento é idêntica, além de muito similar entre estas espécies, não podendo, portanto, ser creditada a estrutura o potencial rizogênico. Para ambas as espécies a região esclerificada parece ser importante ao processo, visto que intensa proliferação celular ocorre em tecidos parenquimáticos circundantes a estes, processo que se considera essencial e preparatório para a formação do tecido vascular a qual é similar a

descrita para *Malus domestica* cv ‘Jork 9’ (JÁSIK; KLERK, 1997), entre outras (ALTAMURA, 1996). Portanto, grupamentos esclerificados parecem contribuir com o processo de formação do calo, vascularização e enraizamento. Cabe salientar, contudo, que o enraizamento indireto é considerado indesejável pela fragilidade da conexão vascular que pode se quebrar durante o plantio e pode gerar consequente tombamento da planta, como descrita para *Eucalyptus benthamii* (BRONDANI et al., 2012).

A comparação das estacas enraizadas mostrou diferença marcante em *A. meransii* em função da fácil separação da casca, ausência de um enraizamento junto à base da miniestacas, bem como a formação de poucas raízes ou de apenas uma raiz. Estrutura radicial adventícia em *A. meransii* é predominantemente divergente da observada em diferentes estudos, incluindo *I. paraguariensis*, tanto pelo menor número de raízes formadas, quanto pela sua distribuição assimétrica. Essa deficiência na formação do sistema radicial se mantém durante o crescimento e desenvolvimento das plantas no campo e está associado ao alto percentual de acamamento observado em alguns clones já nos primeiros anos de cultivo. A inclusão de estudos histológicos também foi motivada por tais características, embora se tinha como hipótese de estudo que apenas diferenças estruturais intrínsecas poderiam estar associadas, tanto ao tipo quanto ao próprio potencial de enraizamento. Um contexto, portanto, muito similar às avaliações usuais dos potenciais de enraizamento associados a barreiras estruturais.

A análise histológica dos diferentes clones de *A. meransii* mostrou extensa dissolução dos tecidos cambiais e do xilema, tanto vertical quanto lateralmente, promovendo uma separação quase total e acropetal do tecido da casca. Essa dissolução foi associada à proliferação de uma podridão já observada com 48 h de cultivo em câmara úmida. As mesmas condições necessárias para maximizar o processo de enraizamento favorecem o desenvolvimento de doenças, neste caso causadas pelo fungo *Cylindrocladium sp.* Este não é o primeiro relato de podridões em miniestacas de *A. mearnsii*. Vinte e nove fungos endofíticos foram isolados de miniestacas assintomáticas (DUIN et al., 2018), sendo o gênero *Calonectria* o mais comum causador de podridões (DUIN et al., 2017).

Deve-se notar entre os clones investigados de *A. mearnsii* que diferem na competência de enraizamento que existe uma única e robusta conexão vascular radial com uma raiz adventícia. Interessante que nesses locais não está presente à infecção fúngica, o que pode indicar que a proliferação das hifas pode estar inibida. Se houver efeito inibitório, a conexão vascular deve ser instalada antes da dissolução cambial. Assim, duas hipóteses podem ser formuladas, uma em que há outro efeito inibitório no local ou, alternativamente, o processo de diferenciação rizogênica e vascular é axial e radialmente assimétrico, e se manifesta mais

precocemente em relação à infecção fúngica. Essa consideração tem a seu favor o fato de que, nesses locais, o tecido cambial não é estruturado, principalmente pela diferenciação da conexão vascular, favorecendo assim a segunda hipótese. Nas diferentes amostras analisadas, foi identificada desdiferenciação de células após as três primeiras horas de cultivo, e que o processo de desdiferenciação ocorre em um único ponto ou dois relativamente próximos, mas não em toda a circunferência da miniestaca. Assim, percebe-se também esse aspecto do início da formação das raízes, reforçando a segunda hipótese.

Detecção de grãos de amido

Nas espécies estudadas, por meio dos diferentes genótipos, o amido em quantidade relevante foi identificado apenas nas miniestacas do genótipo 06SM15 de *Ilex paraguariensis*, já destacado por apresentar os melhores índices de enraizamento (PIMENTEL et al., 2019). De maneira geral, os resultados relativos ao amido são, usualmente, tidos como controversos, em função de não haver um padrão frente ao enraizamento. Assim, em algumas outras situações, a semelhança do presente estudo, há relação positiva entre amido e enraizamento adventício (REUVENI; RAVIV, 1980; CORRÊA et al., 2005; ASLMOSHTAGUI; SHAHSAVAR, 2010; PIMENTEL et al., 2020), embora possa ser inverso (DENAXA et al., 2012), ou sem correlação entre a presença do amido e o enraizamento adventício (LIMA et al., 2011, FERRIANI et al., 2008) como também observado no presente estudo para *A. mearnsii*. Assim, apenas para *I. paraguariensis* o amido seria um marcador interessante, nos termos de Aslmoshtaghi e Reza-Shahsavari (2010). Nos casos de *A. mearnsii* e de *I. paraguariensis*, fica evidente que estudos complementares integrando açúcares solúveis, entre outros fatores, e o enraizamento adventício são necessários.

Considerando que, embora haja relação positiva entre amido e/ou outros açúcares e rizogênese, não é uma relação de causa e efeito (DELRIO et al., 1991; RAHMAN et al., 2002), contudo, o excedente de amido pode estar indicando excedente de carboidratos e consequente disponibilidade em, pelo menos, uma das cultivares de *I. paraguariensis*. Há, naturalmente, uma demanda de açúcares estruturais e fonte de energia, principalmente para espécies com rizogênese indireta, pois os próprios calos são drenos importantes, e cuja diferenciação acaba se sobrepondo ao próprio enraizamento. Soma-se o fato das espécies do presente estudo, mesmo considerando suas diferentes potencialidades de enraizamento, apresentarem um processo relativamente rápido, uma vez que aos 30 dias, após início dos cultivos, já possuem raízes funcionais. Ou seja, há uma demanda em curto período de tempo

para diferentes processos morfogenéticos.

O uso do PAS no presente estudo teve associada à possibilidade de detecção de açúcares, principalmente hexoses no citoplasma, ou vacúolos, (KIERNAN, 1981), tendo sido bem sucedida em células reprodutivas em plantas (OLIVEIRA et al., 2015). Contudo, para ambas as espécies do presente estudo, as análises não permitiram conclusões sobre a presença de outros açúcares. De maneira geral, há correlação entre amido, sua mobilização e outros açúcares, muito bem demonstrada no enraizamento adventício utilizando-se métodos bioquímicos (DELRIO et al., 1991; RAHMAN et al., 2002; REUVENI; RAVIV 1980; CORRÊA et al., 2005; ASLMOSHTAGUI; SHAHSAVAR, 2010, NIKOLETA-KLEIO et al., 2012; LIMA et al., 2011; FERRIANI et al., 2008).

CONCLUSÃO

Para ambas as espécies, a análise histológica trouxe importantes contribuições para o diagnóstico. Em *A. mearnsii*, verificou-se que a ausência de tecido aparece como uma barreira anatômica. Em outras palavras, a competência para o enraizamento adventício é, ao menos em parte, exógena e, portanto, passível de ser superada. Para *I. paraguariensis*, a presença de amido em abundância foi marcante nos clones com maior competência de enraizamento. Nesse caso, portanto, um fator endógeno, associado ao metabolismo do amido, é potencialmente relevante para o enraizamento adventício, embora não possa ser superado com o aprimoramento das práticas de manejo, mas sim com a seleção de clones com maior competência para formação de enraizamento adventício. Em *A. mearnsii* não são observados grãos de amido em tecidos fundamentais, independentemente da competência de enraizamento do clone.

Embora existam algumas peculiaridades, a formação de raízes adventícias em ambas as espécies e clones estudados segue um padrão semelhante, desde o recrutamento de células durante a formação do calo, vascularização adventícia e formação de raízes funcionais indiretamente. As principais diferenças podem estar associadas à velocidade de resposta para o enraizamento adventício que parte dos meristemóides corticais, seguida da diferenciação do tecido condutivo de um neoformado, que conecta a periferia com o tecido vascular secundário. Portanto, esse tecido neoformado promove a base estrutural necessária para a conexão vascular radial. Para ambas as espécies estudadas, a rizogênese possui barreiras, mas estas não são necessariamente anatômicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHKAMI, A. H. *et al.* Molecular physiology of adventitious root formation in *Petunia hybrida* cuttings: involvement of wound response and primary metabolism. **New Phytologist**, 181(3), p.613-625, 2009.
- ALTAMURA, M. M. Root histogenesis in herbaceous and woody explants cultured in vitro. A critical review. **Agronomie**, 16(10), p.589-602, 1996.
- AMISSAH, J. N., PAOLILLO, D. J., BASSUK, N. Adventitious root formation in stem cuttings of *Quercus bicolor* and *Quercus macrocarpa* and its relationship to stem anatomy. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 133(4), p. 479-486, 2008.
- ASLMOSHTAGHI, E., SHAHSAVAR, A. R. Endogenous soluble sugars, starch contents and phenolic compounds in easy-and difficult-to-root olive cuttings. **J. BIOL. ENVIRON. SCI.**,4(11), p. 83-86, 2010
- AVINIO, Renata Smith. Competência ao enraizamento adventício de miniestacas de *Acacia mearnsii* De Wild. 2021. 88p. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Florestal). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2021.
- BEAKBANE, A. B.. Structure of the plant stem in relation to adventitious rooting. **Nature**, 192(4806), p. 954-955, 1961.
- BISOGNIN, Dilson A. Breeding vegetatively propagated horticultural crops. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, S1, p. 35-43, 2011.
<https://www.scielo.br/j/cbab/a/JLNSzyYxYCYzFhNqfKmtXCt/?format=pdf&lang=en>
- BRYANT, P. H.; TRUEMAN, S. J. Stem anatomy and adventitious root formation in cuttings of *Angophora*, *Corymbia* and *Eucalyptus*. **Forests**, 6(4), p.1227-1238, 2015.
- BRONDANI, G. E. *et al.* Low temperature, IBA concentrations and optimal time for adventitious rooting of *Eucalyptus benthamii* mini-cuttings. **Journal of Forestry Research**, 23(4), p. 583-592, 2012.
- BRONDANI, G. E. *et al.* Dynamics of adventitious rooting in mini-cuttings of *Eucalyptus benthamii* x *Eucalyptus dunnii*. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 34, n. 2, p. 169-178, 2012. DOI: 10.4025/actasciagron.v34i2.13059.
- BRUNDRETT, M. C.; KENDRICK, B.; PETERSON, C. A. Efficient lipid staining in plant material with Sudan Red 7B or Fluoral Yellow 088 in polyethylene glycol-glycerol. **Biotechnic & Histochemistry**, 66(3), p.111-116, 1991.
- BURIN, Claudia.; BATISTEL, S.C.; LOHMANN, G.; BISOGNIN, D.A. Rooting competence of mini-cuttings of *Cabralea canjerana* clones in different seasons. **Ciência Rural**, v.50, n. 6, e20190451, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190451>.
- CASARIN, J. V.; MOREIRA, R.MM.; RAASCH, C. G.; TIMM, C. R. F.; SCHUCH, M. W.

Productivity and rooting of olive mini-cuttings grown in a clonal mini-garden according to season. **Comunicata Scientiae**, v. 8, n. 4, p. 537-543, 2017. DOI: 10.14295/CS.v8i4.2330

ERIS, A.; GULEN, H.; BARUT, E.; CANSEV, A. Annual patterns of total soluble sugars and proteins related to coldhardiness in olive (*Olea europaea* L. 'Gemlik'). **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 82, n. 4, p. 597-604, 2007. DOI: 10.1080/14620316.2007.11512279

DAPSON, R. W. Glyoxal fixation: how it works and why it only occasionally needs antigen. 2007

DELRIO, C.; RALLO, L.; CABALLERO, J.M. Effects of carbohydrate content on the seasonal rooting of vegetative and reproductive cuttings of olive. **J. Horticultural. Sci** 66(3): p. 301-309, 1991.

DENAXA, N. K.; VEMMOS, S. N.; ROUSSOS, P. A. The role of endogenous carbohydrates and seasonal variation in rooting ability of cuttings of an easy and a hard to root olive cultivars (*Olea europaea* L.). **Scientia Horticulturae**, 143, p. 19-28. 2012.

DOS SANTOS, A. F.; AUER, C. G.; WREGGE, M. S.; LUZ, E. D. M. N. Impacto potencial das mudanças climáticas sobre a gomose da acácia-negra no Brasil. **Embrapa Florestas- Capítulo em livro científico (ALICE)**. 2011.

DUIN, Izabela M. *et al.* Etiologia e possíveis fontes de inóculo para a ocorrência da podridão de miniestacas de acácia-negra. **Summa Phytopathologica**, v.43, n.4, p.297-302, 2017.

DUIN, Izabela.M. *et al.* Identificação de fungos endofíticos em miniestacas de acácia-negra. **Summa Phytopathologica**, v.44, n.3, p.278-280, 2018.

FERRIANI, Aurea. P. *et al.* Estaquia e anatomia de vassorão-branco. **Scientia Agraria**, 9(2), p.159-166, 2008.

GAZZANA, Denise. *et al.* Selection between and within half-sibling progenies of *Ilex paraguariensis* for adventitious rooting of mini-cuttings. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 20, n. 4, 2020b.

GAZZANA, Denise. *et al.* Vegetative propagation of mate from shoot cuttings induced by coppicing of selected plants. **Semina Ciências Agrárias**; 41(05, supl. 01): p.1849-1860, 2020a.

GERRITS, P. O.; SMID, L. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. **Journal of Microscopy**, 132(1), p.81-85, 1983.

GOODIN, J. R. Anatomical changes associated with juvenile-to-mature growth phase transition in *Hedera*. **Nature**, 208(5009), p.504-505, 1965.

HARBAGE, J. F.; STIMART, D. P.; EVERT, R. F. Anatomy of adventitious root formation in microcuttings of *Malus domestica* Borkh.Gala'. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 118(5), p. 680-688, 1993.

- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES, F. T., Jr.; GENEVE, R. L. Plant propagation: principles and practices. 8th. ed. Boston: Prentice-Hall, p.915, 2011.
- JASIK, J.; DE KLERK, G. J. Anatomical and ultrastructural examination of adventitious root formation in stem slices of apple. **Biologia Plantarum**, 39(1), p.79-90, 1997.
- JOHANSEN, D. A. Plant microtechnique. McGraw-Hill Book Company, Inc: London; p. 530, 1940.
- LAKEHAL, A.; BELLINIA, C. Control of adventitious root formation: insights into synergistic and antagonistic hormonal interactions. **Physiologia Plantarum**, v.165, p. 90–100, 2019.
- LIMA, M.S., ARAUJO, M.M., BERGHETTI, Á.L.P. et al. Mini-cutting technique application in *Corymbia* and *Eucalyptus*: effects of mini-tunnel use across seasons of the year. **New Forests**, v. 53, p. 161–179, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11056-021-09851-4>
- LIMA, C.; OHASHI, S.; SIMÕES, P.; JUCOSKI, G.; ANDRADE, P. et al. Effect of indol-3-butiric acid (IBA) on rooting of cuttings of *Schizolobium parahyba* var. amazonicum (Huber ex Ducke) Barneby. **Australian Journal fo Crop Science**, v. 13, n. 5, p. 761-766, 2019. DOI: 10.21475/ajcs.19.13.05.p1543
- LOVELL, P. H.; WHITE, J. Anatomical changes during adventitious root formation. In *New root formation in plants and cuttings*. Springer, Dordrecht. p. 111-140, 1986.
- MAIDANA, D.P.F.L.; SILVA, J.R.; RIBAS, A.C.A.; SCREMIN-DIAS, E. Do six-year-old eucalyptus clones maintain uniformity in growth and wood quality in different soils? **Plant and Soil**, v. 471, n. 1-2, p. 261-272, 2022. DOI: 10.1007/s11104-021-05216-0
- MCDOWELL, E. M.; TRUMP, B. F. Histologic fixatives suitable for diagnostic light and electron microscopy. **Archives of pathology & laboratory medicine**, 100(8), p. 405-414, 1976.
- NAIDU, D.; JONES, N. Evaluation of mini-cuttings technique as a propagation system for *Eucalyptus* hybrids. **Acta Horticulturae**, v. 1140.1, 2016. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1140.1>
- NIEVOLA, C.C.; CARVALHO, C.P.; CARVALHO, V.; RODRIGUES, E. Rapid responses of plants to temperature changes. **Temperature**, v. 4, n. 4, p. 371-405, 2017. DOI: 10.1080/23328940.2017.1377812
- O'BRIEN, T. P.; MCCULLY, M. E. The study of plant structure principles and selected methods (No. 581.4 O2), 1981.
- OLIVEIRA, J. M. S. D.; MARTINS, M. S.; DORNELES, M. P.; FREITAS, C. C. D. Starch distribution in anthers, microspores and pollen grains in *Aechmea recurvata* (Klotzsch.) LB Sm., *Dyckia racinae* LB Sm. and *Tillandsia aeranthos* (Loisel.) LB Sm.(Bromeliaceae). **Acta Botanica Brasilica**, 29, p. 103-112, 2015.
- PIMENTEL, Nathalia *et al.* Produtividade de minicepas e enraizamento de miniestacas de clones de

erva-mate *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. **Ciência Florestal**, v. 29, p. 559-570, 2019.

PIMENTEL, Nathalia *et al.* Effect of mini-cutting size on adventitious rooting and morphophysiological quality of *Ilex paraguariensis* plantlets. **Journal of Forestry Research**, v. 1, p. 815–822, 2020. DOI: 10.1007/s11676-020-01126-6.

PIMENTEL, Nathalia *et al.* Produtividade de minicepas e enraizamento de miniestacas de clones de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). **Ciência Florestal**, 29, p. 559-570, 2019.

PIMENTEL, Nathalia *et al.* Anatomical characterization of the adventitious roots of mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) mini-cuttings. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. 63, 2020

RASMUSSEN, A. *et al.* Adventitious rooting declines with the vegetative to reproductive switch and involves a changed auxin homeostasis. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 5, p. 1437–1452, 2015. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru499>

RAHMAN N.; AWAN A.A; NABI G. Root initiation in hard wood cutting of olive cultivar coratingusing different concentration of IBA. **Asian J. Plant Sciences** v.1, p.563-564. 2002.

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

REUVENI, O.; RAVIV, M. Importance of leaf retention to rooting of avocado cuttings. **J. Amer. Soc. Hort. Sci**, 106(2), p.127-130, 1980.

SACHS R.M; LORETI F.; DE BIE J. Plant rooting studies indicate sclerenchyma tissue is not a restricting factor. **California Agriculture**. Sep;18(9):4-5, 1964.

SANTOS, Aline Ramalho Dos *et al.* Mini-cuttings technique for vegetative propagation of *Dalbergia nigra*. **CERNE**, Lavras , v. 26, n. 4, p. 427-434, Dez. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/01047760202026042749>.

SHAO, F. *et al.* Effects of IBA on the rooting of branch cuttings of Chinese jujube (*Zizyphus jujuba* Mill.) and changes to nutrients and endogenous hormones. **Journal of Forest Research**, v. 29, p. 1557–1567, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11676-017-0557-6>

SIDMAN, R. L.; MOTTOLA, P. A.; FEDER, N. Improved polyester wax embedding for histology. **Stain technology**, 36(5), p. 279-284, 1961.

STANGLER, B. B. Origin and development of adventitious roots in stem cuttings of chrysanthemum, carnation, and rose. N.Y. **Agric. Exp.**, Sta. Mem. 342, 1956.

PEREIRA, M. O *et al.* Roots of mini-cutting of clones of *Sequoias sempervirens* in different seasons of the year. **CERNE**, v. 24, n. 4, p. 452-460, 2018. (21) (PDF) *Roots of mini-cutting of clones of sequoia sempervirens in different seasons of the year*. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/332396621_Roots_of_mini-cutting_of_clones_of_sequoia_sempervirens_in_different_seasons_of_the_year.

WIT, M.; LORRAIN, S.; FANKHAUSER, C. Auxin-mediated plant architectural changes in response to shade and high temperature. **Physiologia Plantarum**, v.151, n.1, p.13-24, 2014.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Acácia-negra, independente da camada esclerênquima na região do floema, não foi uma barreira anatômica;
- A formação de raízes na acácia-negra ocorreu de forma geral pela proliferação endoderme, tecido vascular e pela atividade do floema primário e secundário;
- Em *A. mearnsii*, a ausência de tecido, em ocorrência de fungos nas primeiras horas de cultivo, foi uma barreira ambiental (manejo);
- *I. paraguariensis*, a presença de amido (carboidrato) em abundância foi marcante nos clones com maior competência de enraizamento;
- A formação de raízes adventícias em ambas as espécies e clones estudados apresentaram semelhança;
- A formação de calos não caracterizou como barreira anatômica para as espécies estuda;
- A formação de raízes foi caracterizada pelo padrão indireto em ambas as espécies.