ASPECTOS MORFOLÓGICOS DA APLICAÇÃO DE REGULADORES DO CRESCIMENTO NAS ESTACAS DE *Ilex paraguariensis* St. Hilaire*

MORPHOLOGICAL ASPECTS OF THE ACTION OF AUXINS ON LEAFY CUTTINGS OF *Ilex paraguariensis* St. Hilaire

CECÍLIA IRITANI**
RONALDO V. SOARES***
ARACELY V. GOMES****

RECEBIDO EM: 22/04/86
APROVADO EM: 20/05/86

1 INTRODUÇÃO

A erva-mate é uma das essências florestais nativas de maior interesse econômico da região sul do Brasil e cujas sementes, apesar de abundantes, apresentam processo de germinação demorado.

A propagação vegetativa por estaquia desta espécie é um meio alternativo, não só para a obtenção mais rápida de mudas, mas também pode ser utilizada para programas de melhoramento da espécie.

O enraizamento das estacas é o resultado da interação de um complexo de fatores, entre os quais podemos citar:

- a) ambientais: luz (HANSEN & NYMANN¹⁵, LESHEM & SCHWARZ²⁰, OKORO & GRACE²³, SHAPIRO²⁷); temperatura (HARTMANN & KESTER¹⁶, OKORO & GRACE²³); umidade relativa (BOSE & MONDAL⁴, FRETZ & SMITH¹², LOACH²¹, STOUTMEYER²⁹); tipo de substrato utilizado (HARTMANN & KESTER¹⁶, KOMISSAROV¹⁸); estação do

* Trabalho baseado em dados parciais da Dissertação de Mestrado defendido pela 1.ª autora.

** Naturalista, M.Sc., Prof.ª Assistente do Departamento de Botânica do Setor de Ciências Biológicas da UFPR.

*** Eng.º Florestal, M.Sc., Ph.D., Prof. Titular do Curso de Engenharia Florestal da UFPR

**** Naturalista, M.Sc., Prof.ª Titular do Departamento de Botânica do Setor de Ciências Biológicas da UFPR.

- ano (DOSSER & HICKS⁹, HARTMANN & KESTER¹⁶), NANDA et alii²², RICHARDSON²⁵, ROBERT & FUCHIGAMI²⁶);
- b) da própria planta: espécie, tipo de estacas, idade do ortet (BROWN⁵, CAMERON⁶, DOSSER & HICKS⁹, GARDNER¹³, HARTMANN & KESTER¹⁶, KOMISSAROV¹⁸);
- c) fisiológicas: estado nutricional das estacas, aplicação de nutrientes, nível endógeno e aplicação de reguladores do crescimento (AROSSES & VIEITEZ¹, LESHEM & SCHWARZ²⁰, OKORO & GRACE²³, SKOOG²⁸).

Um dos aspectos mais estudados é o que se refere à aplicação de reguladores do crescimento, as auxinas. A efetividade destas no enraizamento pode ser medida através do tempo necessário para a indução, pelo número de estacas enraizadas, número de raízes por estaca e pela qualidade de raízes formadas. Esta última por sua vez pode ser avaliada pela sobrevivência das estacas após o enraizamento e pela estrutura das raízes resultantes.

O presente trabalho trata da análise morfológica da ação de duas auxinas, o ácido indol-3-acético (AIA) e o ácido indol-3-butírico (AIB) nas estacas de erva-mate em duas estações do ano.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As estacas foram postas a enraizar em laboratório da Escola de Florestas da Universidade Federal do Paraná e foram coletadas de indivíduos de 40 anos, vegetando em sub-bosque situado no município de São João do Triunfo, 780 s.n.m., 23°34'18" de latitude sul, 50°05'56" de longitude oeste; clima do tipo Cfb, com temperatura média anual de 17°C e precipitação anual média de 1.52mm, solo tipo podzólico vermelho amarelo distrófico e cambisol distrófico-álco, e pH 4.5 a 5.

O substrato utilizado foi areia de construção média, peneirada e lavada, esterilizada com brometo de metila (40 cc/m²), antes de cada plantio. A umidade do substrato e das estacas foi mantida através de um sistema de nebulização intermitente regulado para aspersões de 10s a cada 8 minutos, 16 horas por dia. A intensidade luminosa no interior do laboratório foi mantida em torno de 2 Klux, 16 horas por dia, sendo a luminosidade natural complementada por um sistema artificial composto por 6 lâmpadas incandescentes e 5 lâmpadas vapor mercúrio de 150 a 250 W respectivamente. No segundo plantio a temperatura

na base das estacas foi mantida a 20°C por um sistema de aquecimento.

Antes de cada plantio foi feita a assepsia das estacas, imergindo-as por uma hora em uma solução 0.5% de fungicida sistêmico "Benlate". Além deste, as bases das estacas ainda receberam um tratamento prévio com uma solução 2N de hidróxido de sódio por 2 minutos. Os reguladores do crescimento, os ácidos indol-3-acético e o ácido-3-butírico, foram aplicados às concentrações de 3.000 e 5.000 ppm, utilizando-se talco neutro como veículo. O veículo contendo as auxinas foi aplicado de maneira a cobrir a secção basal e os 2 cms inferiores das estacas.

No decorrer do período de enraizamento foram aplicados uma vez por semana, o adubo foliar "Ouro Verde" (100ml do adubo + 3.5ml do espalhante adesivo "Agroceres", para 25l de água do depósito do sistema de nebulização), e o fungicida "Bravonil 500" (150ml/35 l de água).

Foram feitos 2 plantios: o primeiro no fim do verão início de outono (13-3-80) e o segundo no inverno (26-7-80). No primeiro plantio foram utilizadas estacas das partes terminais e no segundo, das partes basais de ramos de 1 a 2 anos. Todas as estacas tinham 16cm de tamanho, as primeiras com 4 folhas reduzidas a 1/3 do tamanho original, as segundas com 5 ambos também reduzidas a 1/3 do tamanho original. O período de observação foi de 7 dias para ambos os plantios. Em ambos, o delineamento estatístico utilizado foi o do completamento casualizado. Os dados transformados em arco sen $\sqrt{q_0}$, foram analisados através da técnica de contrastes ortogonais fazendo-se tantos contrastes quanto necessários para se obter todas as combinações desejadas para cada fator analisado. Todos os fatores foram feitos a 95% de probabilidade. Nos 2 plantios foram considerados os seguintes tratamentos:

1.º plantio:

T₁ — controle

T₂ — pré-tratamento com NaOH + AIA a 3.000 ppm

T₃ — pré-tratamento com NaOH + AIA a 5.000 ppm

T₄ — pré-tratamento com NaOH + AIB a 3.000 ppm

T₅ — pré-tratamento com NaOH + AIB a 5.000 ppm

2.º plantio:

Foram considerados 6 tratamentos com a inclusão de um segundo tratamento, T₂, cujas estacas receberam somente o pré-tratamento com a solução 2N da NaOH.

Os fatores analisados foram: sobrevivência das estacas no período de enraizamento, índice de retenção foliar, índice de brotamento, índice de formação de calo, número de estacas enraizadas e estacas com mais de 10 raízes.

Os fatores analisados foram: sobrevivência das estacas no período de enraizamento, índice de retenção foliar, índice de brotamento, índice de formação de calo, número de estacas enraizadas e estacas com mais de 10 raízes.

Para o estudo anatômico nas estacas, foram utilizados exemplares enraizados que receberam tratamento com AIA a 5.000 ppm a AIB a 3.000 e 5.000 ppm. As bases das estacas (3 a 4cm) foram seccionadas transversal e longitudinalmente em partes menores conforme a distribuição das raízes. Devidamente separados em recipientes etiquetados, o material foi fixado em FAA (5% de formol, 5% de ácido acético glacial e 90% de álcool 70%) por 24 horas. Após o que, o material foi lavado em água corrente por 24 horas e desidratado mediante uma bateria alcoólica de 10 a 100%, também por períodos de 24 horas para cada concentração. Após permanência em álcool absoluto, o material a ser estudado passou por uma mistura de álcool-xilol nas proporções de 3:1, 1:1 e 1:3 e finalmente em xilol puro. Ao xilol puro acrescentou-se raspas de parafina que foi deixada a dissolver lentamente à temperatura ambiente até a saturação. Os recipientes contendo fragmentos das estacas, xilol e parafina, foram levados à estufa à temperatura de 60°C trocando-se gradualmente a mistura xilol-parafina por parafina líquida até que se obtivesse somente esta última. Após 2 a 3 semanas de permanência em parafina líquida em estufa, os fragmentos foram acondicionados em blocos de parafina sólida. A seguir, cada bloco contendo um fragmento foi reduzido e seccionado em cortes em série, de 10 micrômetros de espessura em micrótomo Spencer. Em ordem sucessiva de corte, números variáveis de secções foram fixados com adesivo de Haupt, em lâminas devidamente numeradas. Após 24 horas de secagem, com a devida técnica, procedeu-se à coloração das secções mediante o corante misto Safra-blau (solução alcoólica a 1% de azul de Astra + solução alcoólica a 1% de safranina a 1%, nas proporções de 8:2 e 7:3). O azul de Astra para paredes com

celulose somente; a safranina para coloração de paredes celulares lignificadas. A montagem das lâminas permanentes foi feita mediante a fixação dos cortes entre lâmina e lamínula com Entellan. O estudo anatômico foi feito com o auxílio de um microscópio Zeiss.

3 RESULTADOS

3.1 MORFOLÓGICOS EXTERNOS

A temperatura e umidade relativa médias durante os períodos de enraizamento foram: 20,9°C e 79,8% e 17,7°C e 82,50% respectivamente.

Os resultados das variáveis observadas no 1.º e 2.º plantios encontram-se nos quadros I e II e as diferenças estatísticas entre os tratamentos analisados através dos contrastes ortogonais nos quadros III e IV. Os aspectos morfológicos externos das raízes formadas durante o período de plantio (45 a 60 dias) e das estacas cerca de 6 meses após o transplante podem ser observados pelas figuras 1 e 2.

Os aspectos anatômicos estão na seguinte seqüência: estrutura do material vegetativo utilizado como estaca (figura 3); aspectos gerais do calo (figuras 4 e 5); ação das auxinas sobre o câmbio (figuras 6 e 7); iniciação radicial nas estacas (figuras 8 a 11); conexão vascular entre as raízes formadas e o corpo da estaca (figuras 12 e 14); diferenciação e alongamento das raízes formadas (figura 12); estrutura meristemática primária e estrutura primária adulta das raízes formadas (figuras 14 a 16).

4 DISCUSSÃO

4.1 ASPECTOS MORFOLÓGICOS EXTERNOS

Pelos quadros I a IV pode-se verificar que as auxinas aplicadas atuaram significativamente não só no enraizamento, com maior efetividade do AIB no 1.º plantio, como também na retenção das folhas e brotamento das estacas. Estes resultados concordam em parte com o exposto por AUDUS², de que o AIB é mais efetivo que o AIA na indução do enraizamento, devido sua menor mobilidade e maior estabilidade química no corpo da estaca. Desta maneira pode atuar melhor que o AIA a uma mesma concentração ou atuar com a mesma intensidade a uma concentração menor.

QUADRO I

Variáveis	TRATAMENTOS				
	T ₁ (Test.)	T ₂ (A/A 3000)	T ₃ (A/A 5000)	T ₄ (A/B 3000)	T ₅ (A/B 5000)
Sobrevivência	72,92	93,75	86,90	85,42	75,00
Ret. foliar	37,58	64,66	63,58	50,58	37,00
Brotamento	—	18,75	16,67	20,83	8,33
Calo	62,50	89,58	85,42	85,42	68,75
Enraizamento	2,08	33,00	54,16	75,00	52,08
Est. + 10 r.	—	2,08	14,58	43,75	41,66

QUADRO I. Médias das variáveis analisadas, por tratamento, observadas no 1.º plantio (em percentagem).

QUADRO 2

Variáveis	CONTRASTES ORTOGONAIS			
	(T ₁ x Outros)	(T ₂ T ₃ x T ₄ T ₅)	T ₂ x T ₃)	(T ₄ x T ₅)
Sobrevivência	sig.	n.s.	n.s.	n.s.
Ret. Foliar	sig.	sig.	n.s.	n.s.
Brotamento	sig.	n.s.	n.s.	n.s.
Calo	sig.	n.s.	n.s.	n.s.
Enraizamento	sig.	n.s.	n.s.	n.s.
Est. + 10 r.	sig.	sig.	sig.	n.s.

QUADRO II. Diferenças estatísticas entre as médias, obtidas pela de com-
posição em contrastes ortogonais (sig. = significativa; n.s.
= não significativa).

QUADRO 3

Variáveis	TRATAMENTOS					
	T ₁ (Test.)	T ₂ (NaOH)	T ₃ (AIA 3000)	T ₄ (AIA 5000)	T ₅ (AIB 3000)	T ₆ (AIB 5000)
Sobrevivência	71,42	76,78	73,20	53,36	60,71	42,85
Ret. foliar	26,40	27,55	42,45	29,60	28,15	25,65
Brotamento	14,28	46,43	57,14	41,06	49,99	37,49
Calo	71,43	75,00	66,07	51,78	42,86	26,78
Enraizamento	3,57	3,57	28,56	28,56	26,78	19,63
Est. + 10 r.	—	—	9,82	13,39	12,49	14,28

QUADRO III. Médias das variáveis analisadas, por tratamento, observadas no 2.º plantio (em percentagem).

QUADRO 4

Variáveis	CONTRASTES ORTOGONAIS				
	(T ₁ x Outros)	(T ₂ x T ₃ a T ₆)	(T ₃ x T ₄ x T ₅ x T ₆)	(T ₃ x T ₄)	(T ₅ x T ₆)
Sobrevivência	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Ret. Foliar	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Brotamento	sig.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Calo	n.s.	sig.	sig.	n.s.	n.s.
Enraizamento	sig.	sig.	n.s.	n.s.	n.s.
Est. + 10 r.	sig.	sig.	n.s.	n.s.	n.s.

QUADRO IV. Diferenças estatísticas entre as médias obtidas pela decomposição em contrastes ortogonais (sig. = significativas; n.s. = não significativas).

Figura 1. Resultados do 1.º plantio: T — controle; AIA₁ — ácido indol-3-acético a 3.000 ppm; AIA₂ — ácido indol-3-acético a 5.000 ppm; AIB₁ e AIB₂ — ácido indol-3-butírico a 3.000 a 5.000 ppm.

Figura 2. Estaca tratada do 1.º plantio, cerca de 6 meses após o transplante, demonstrando desenvolvimento radicial normal (erva-mate).

Figura 3. Secção transversal da base de uma estaca de erva-mate antes do plantio. EP — epiderme; CO — cortex; TF — traço foliar; ESC — esclerênquima; F — floema; C — cambio; X — xilema; MD — medula (60 X).

Figura 4. Aspecto geral do calo de uma estaca de erva-mate tratada com AIB a 3.000 ppm. PC — parênquima caloso; SC — súber do calo; X₂ — xilema de estaca; XC — xilema do calo (40 X). (Secção longitudinal radial).

Figura 5. Detalhe do xilema no calo de uma estaca de erva-mate tratada com AIB a 3.000 ppm. TD — traqueóide; PC — parênquima caloso (475 X) (Secção longitudinal tangencial).

Figura 6. Início da atividade cambial em uma estaca de erva-mate tratada com AIA a 5.000 ppm. X₂ — xilema da estaca; C — cambio em início de atividade; FL — floema; ESC — esclerênquima (60 X) (Secção longitudinal tangencial).

Figura 7. Estágio mais avançado da proliferação do cambio em uma estaca de erva-mate tratada com AIA a 5.000 ppm. X₂ — xilema da estaca; XN — xilema neoformado; TFI — tecido floemático indiferenciado; FL — floema da estaca; ESC — esclerênquima (60 X) (Secção longitudinal tangencial).

Figura 8. Saliências de xilema neoformado por atividade cambial mostrando estágios primários da iniciação radicial, em uma estaca de erva-mate tratada com AIA a 5.000 ppm. X₂ — xilema da estaca; XSN — saliência de xilema neoformado; IR — iniciais de raiz; FL — floema de estaca (60 X) (Secção longitudinal tangencial).

Figura 9. Iniciação radicial junto à massa vascular do calo, em uma estaca de erva-mate. Estaca tratada com AIB a 3.000 ppm. XC — xilema caloso; IR — iniciais de raiz; PC — parênquima caloso; SC — súber do calo (40 X) (Secção longitudinal tangencial).

Figura 10. Maciço meristemático radicial em uma estaca de erva-mate tratada com AIA a 5.000 ppm. X₂ — xilema da estaca; XN — xilema neoformado; PR — primórdios radicular; FL — floema; CFD — células do floema em divisão (60 X) (Secção longitudinal tangencial).

Figura 11. Detalhe do maciço meristemático da Figura 10. PR — primórdio radicial; XN — xilema neoformado; PM — projeções meristemáticas (150 X) (Secção longitudinal tangencial).

Figura 12. Raízes emergidas em uma estaca de erva-mate tratada com AIA a 5.000 ppm, mostrando estrutura primária. X₂ — xilema da estaca; CF — coifa; CC — cilindro central; CO — cortex (40 X) (Secção longitudinal tangencial).

Figura 13. Conexão vascular entre a estaca e a raiz emergida em uma estaca de erva-mate tratada com AIB a 5.000 ppm. X₂ — xilema da estaca; XN — xilema neoformado; XR — xilema da raiz; FL — floema da estaca; FI — floema indiferenciado da raiz (150 X) (Secção transversal).

Figura 14. Detalhe da conexão vascular entre a estaca e a raiz emergida em uma estaca de erva-mate tratada com AIA a 5.000 ppm. X₂ — xilema da estaca; XN — xilema neoformado; XR — xilema da raiz; FI — floema indiferenciado (475 X) (Secção longitudinal tangencial).

Figura 15. Corte transversal de uma raiz adventícia de uma estaca de erva-mate tratada com AIB a 5.000 ppm. EP — epiderme; CO — cortex; X — xilema; FL — floema (240 X).

Figura 16. Ponta de uma raiz adventícia em uma estaca de erva-mate tratada com AIA a 5.000 ppm. CF — coifa; DC — dermatocaliptogênio; PB — periblema; PL — pleroma; PD — protodermis (475 X) (Secção longitudinal mediano).

A sobrevivência e o enraizamento das estacas tratadas foi melhor no 1.º plantio, com o que se pode concluir que talvez a época de plantio neste experimento tenha sido mais favorável em relação à do 2.º plantio (inverno), apesar de que as estacas nos 2 plantios diferiram pela sua posição no ramo e portanto no grau de lignificação. As do 2.º plantio estavam mais lignificadas e teoricamente deveriam ser mais resistentes. Segundo VIEITZ³¹, a presença de um anel de esclerênquima no ramo (figura 3) pode ser um obstáculo à emergência das raízes, diminuindo assim sua capacidade para o enraizamento. Segundo KRICUN et alii¹⁹, a melhor época de coleta e plantio das estacas de erva-mate (com folhas e de ramos do ano), na região de Missões, Argentina, foram os meses de maio, junho, novembro e dezembro, sendo março e abril melhores que julho e agosto. Outro aspecto que pode ter influído nos resultados do 2.º plantio, é abordado por muitos pesquisadores entre os quais NANDA et alii²², ROBERTS & FUCHIGAMI²⁶, segundo os quais se pode ter: a) estação do ano tem efeito pronunciado no enraizamento das estacas e parece estar relacionado com a atividade cambial e o nível endógeno de auxina (AIA); as auxinas aplicadas não modificam esta relação; b) a efetividade das auxinas aplicadas portanto, pode variar conforme a estação do ano: pode ser estimuladora em uma e inibidora e mesmo tóxica em outra; c) o máximo de enraizamento pode ser induzido por duas diferentes auxinas em duas diferentes épocas do ano. Segundo DEVLIN⁸, as auxinas estimulam a formação do calo, a indução das raízes, o alongamento das raízes e dos brotos e influem na retenção das folhas. Para qualquer destes efeitos existe uma concentração ótima acima da qual há inicialmente um efeito inibitório e depois um efeito tóxico. O estímulo para a formação de raízes é acionado por uma concentração maior que as necessárias para induzir qualquer um dos outros efeitos. AUDUS², SKOOG²⁸ e outros admitem que o transporte das auxinas aplicadas às estacas ocorre principalmente através dos vasos lenhosos devido à corrente transpiratória. A retenção das folhas, conforme DEVLIN⁸ e VÁLIO³⁰, é controlada pelo transporte de auxina do limbo para o pecíolo: quando este cai a um nível muito baixo, há como reação, a formação da camada de abscisão no pecíolo que acarreta a queda da folha. Os aspectos acima expostos são ilustrados pelos resultados obtidos principalmente no 1.º plantio: a indução das iniciais de raiz foi acionada pela maior quantidade de auxina que permaneceu na base das estacas; uma parte ascendeu e estimulou a brotação e atuou positivamente na retenção das folhas nas estacas tratadas. Os resultados do 2.º

plantio já não foram tão coerentes e podem ter sido resultado da maior mortalidade das estacas tratadas, principalmente as que receberam AIA e AIB a 5.000 ppm a AIB a 3.000 ppm. Este fato talvez possa ser resultado de um maior nível endógeno de AIA que juntamente com as quantidades aplicadas podem ter exercido um efeito tóxico. Este nível endógeno maior nesta época pode ser pressuposto pela comparação entre as estacas do 1.º e 2.º plantios quanto ao índice de brotação que no 2.º plantio foi maior.

4.2 ASPECTOS ANATÔMICOS

O conhecimento do aspecto anatômico da formação das raízes nas estacas reveste-se de particular importância quando se tem em mente certos objetivos práticos. Este conhecimento está ligado às pesquisas que visam o estudo da extensão da ação das auxinas conforme os fatores ambientais (CAMERON⁶), diferenças na capacidade de enraizamento conforme a idade da planta (GIROUARD¹⁴), melhoria das condições e técnicas de enraizamento (BLAZICH & HANSEN³, HEMAN & OWVENS¹⁷, REINES & McALPINE²⁴).

A formação do calo nas plantas lenhosas nem sempre tem relação com a formação de raízes mas serve para indicar a favorabilidade das condições ambientais (e principalmente do substrato) dadas para o enraizamento, uma vez que suas exigências são similares. O desenvolvimento e a estrutura do calo nas estacas de erva-mate seguiram o padrão normal já verificados por GIROUARD¹⁴, HEAMANS & OWENS¹⁷ e KOMISSAROV¹⁸. O calo surge em maior parte devido à atividade cambial, podendo haver participação de outros tecidos tais como parênquimas cortical, xilemático e floemático, medula. Também pode haver contribuição do flogênio. É constituído quase que na totalidade por células parenquimáticas, entre as quais se encontram conjuntos de traqueóides curtos, formados ou a partir de células derivadas da atividade cambial ou por desdiferenciação (aparentemente ao acaso) de células e grupo de células parenquimáticas do próprio calo. Neste caso a desdiferenciação causa a formação de um meristema caloso a partir do qual há formação das células xilemáticas de um lado e de células alongadas que não se diferenciam muito do outro. Na periferia do calo há a formação de um felogênio por desdiferenciação das células parenquimáticas superficiais, e da atividade deste forma-se uma periderme. Segundo ESAU¹¹, este tipo de periderme

reflete boas condições de umidade e arejamento do substrato ou das condições ambientais (figs. 4 e 5).

O que se destaca dentre os aspectos anatômicos da formação e desenvolvimento do calo nas estacas de erva-mate é o fato de que houve a formação de primórdios radiciais a partir do meristema das massas vasculares do parênquima, aspecto mais comum às Ginospermas segundo CAMERON & THOMSON⁶ DALGAS⁷, REINES & McALPINE²⁴ (fig. 9).

GIROUARD¹⁴ descreve o processo da iniciação radicial nas estacas em 4 etapas:

- a) desdiferenciação ou remeristematização (se houver células diferenciadas envolvidas);
- b) iniciação: quando há formação de pequenos grupos de células meristemáticas, que são denominadas de iniciais de raízes;
- c) diferenciação quando as iniciais de raiz dão origem por várias divisões celulares ao primórdio radicial no qual, após um certo crescimento já se encontram organizados os tecidos meristemáticos primários (periblema e ple roma e dermatogênio);
- d) alongação ou extensão da raiz, com a emergência da mesma, crescimento em comprimento e diâmetro com diferenciação progressiva.

Conforme o que se verificou nas estacas de erva-mate, não ocorreu a fase de desdiferenciação uma vez que as iniciais foram formadas por células derivadas do cambio. O cambio estimulado pela auxina formou saliências no ápice das quais foram formadas as iniciais de raiz (figs. 6a 8). O fato destas iniciais estarem frequentemente associadas a raios xilemáticos mais desenvolvidos pode ter resultado do maior afluxo de AIA e AIB através das suas células, determinando um estímulo local do cambio. As iniciais de raiz são descritas por HEAMAN & OWENS¹⁷, como um grupo de células facilmente identificável: as células são pequenas e isodiamétricas, com núcleos grandes, citoplasma denso e paredes delgadas. Elas proliferam até o ponto no qual se inicia a fase de diferenciação ou seja, quando os meristemas primários se tornam identificáveis. À semelhança das raízes secundárias podem ser formadas bolsas protetoras ao redor dos primórdios pela desdiferenciação das células dos tecidos vizinhos aos mesmos à medida que eles crescem

(ESAU¹¹), o avanço do primórdio que inicia a fase de alongamento se processa através de ação enzimática e mecânica com a digestão, compressão e rompimento dos tecidos adjacentes (BLAZICH & HENSEN³) (figs. 10 a 12).

A conexão vascular nas raízes que se originam a partir do câmbio ou dos tecidos próximos ocorre com a diferenciação dos elementos xilemáticos e floemáticos a partir das células que formam projeções meristemáticas em cujos ápices se localizam os primórdios. Pode ocorrer diferenciação vascular também pela desdiferenciação de células dos tecidos vizinhos ao primórdio. A diferenciação dos elementos xilemáticos é rápida e a dos elementos floemáticos bem mais lenta (figs. 13 e 14).

Segundo KOMISSAROV¹⁸ o uso das auxinas pode acelerar o processo da iniciação radicial mas depende das condições fisiológicas das estacas. Em muitos casos pode haver a formação de raízes não funcionais que podem causar a morte das estacas não só pelo esgotamento das reservas nutricionais mas também pela ineficiência na absorção. As raízes induzidas pelo AIA e AIB nas estacas de erva-mate não se enquadram neste caso, pois que apresentaram morfologia externa e interna e capacidade de absorção praticamente iguais às de uma planta de origem seminal (figs. 15 e 16).

5 CONCLUSÕES

- a) As condições ambientais dadas para o enraizamento, particularmente o uso da nebulização intermitente regulada em 8 minutos de intervalo entre aspersões e 10 segundos de aspersão, são satisfatórias para a sobrevivência das estacas com folhas de *Ilex paraguariensis*;
- b) Os tratamentos auxínicos estimularam a iniciação radicial, aumentando o número de estacas enraizadas, o número de raízes por estaca e diminuindo o período requerido para o enraizamento, diminuíram a queda das folhas e estimularam a brotação;
- c) O enraizamento das estacas apicais de ramos de 1 e 2 anos de erva-mate coletados no fim do verão é mais efetivo quando as bases dos mesmos são imersas em solução 2N de NaOH, por 2 minutos, e com tratamento com ácido indol-3-butírico a 3.000 e 5.000 ppm;
- d) A aplicação dos ácidos indol-3-acético e indol-3-butírico

propiciam a formação de raízes funcionais nas estacas de erva-mate;

- e) O câmbio é o elemento chave na iniciação radicial nas estacas de erva-mate; há no entanto iniciação radicular, também, a partir das massas vasculares formadas no calo;
- f) As raízes formadas apresentaram capacidade de diferenciação em estruturas normais e iguais às duas raízes de origem seminal.

RESUMO

Estacas com folhas de *Ilex paraguariensis* St. Hilaire foram tratadas com os ácidos indol-3-acético e indol-3-butírico e plantadas em areia, sob nebulização intermitente e intensidade luminosa de 2.000 (lux).

As auxinas estimularam o enraizamento, a brotação e diminuíram a queda das folhas; estimularam também a atividade cambial e a dediferenciação de outros tecidos tendo-se como resultado a formação do calo e a iniciação radicial. As raízes formadas são estruturalmente funcionais.

PALAVRAS CHAVE: estacas, auxinas, *Ilex paraguariensis*.

SUMARY

Leafy cuttings of *Ilex paraguariensis* St. Hilaire were treated with indole-3-acetic and indole-3-butyric acids, planted in sand, under intermittent mist, at light intensity of 2.000 lux.

Auxins stimulated significantly the rooting, shoots elongation and influenced the retention of leaves; cambial activity and parenchyma dedifferentiation were either stimulated, with callus and root initials formation. Formed roots are structurally functional.

KEY WORDS: cuttings, auxins, *Ilex paraguariensis*.

RÉSUMÉ

Les boutures avec feuilles d'*Ilex paraguariensis* St. Hilaire ont été traitées avec les acides indol-3-acétique et indol-3-butirique, plantées en sable, maintenues sous nébulisation intermittente et à l'intensité lumineuse de 2.000 lux. Les auxines stimu-

lent l'enracinement, la pousse et diminuent la chute des feuilles des boutures traitées; stimulent aussi l'activité de cambium et la différenciation des parenchymes avec la formation de la callosité et l'initiation racinaire. Les racines formées sont structurellement fonctionnelles.

MOTS CLÉS: boutures, auxines, *Ilex paraguariensis*.

AGRADECIMENTOS

A Prof.^a Aracely V. Gomes pelas fotomicrografias; aos Professores Rudi A. Seitz, Guido Ferencz e Franz Wolf, pelas fotomicrografias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — AROSES, M. & VIEITEZ, E. Monthly variations on the content of growth substances and inhibitors in cuttings leafbuds and leaves of chestnut. *Anales de Edafologia y Agrobiologia*, Madrid, 29(9/10): 625-30, 1971.
- 2 — AUDUS, L.J. **Plant growth substances**. 2.ed. New York, Intersciences, 1963, 553 p.
- 3 — BLAZICH, F.A. & HENSEIN, C.W. A histological study of adventitious root formation in mung bean cuttings. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, Géneva, N.Y., 104(1):63-7, 1979.
- 4 — BOSE, T.K. & MONDAL, D.P. Rooting of cuttings under mist. *Ind. J. Agric. Sci.*, Nova Delhi, 43(3):229-33, 1974.
- 5 — BROWN, A.G. Comparison of early growth in radiata Pines raised by cuttings from parents of different ages with that of seedlings trees. *Aust. For. Sci.*, Canberra, A.C.T., 6(3):43-7, 1974.
- 6 — CAMERON, R.J. The propagation of *Pinus radiata* by cuttings. Influences affecting the rooting of cuttings. *New Zealand J. For.*, Wellington, N.Z., 13(1):78-79, 1968.
- 7 — DALGAS, K.F. Anatomical studies on cuttings of Norway spruce (*Picea abies* L. Karst) undergoing the rooting process. *For. Tree. Improv.*, Arboretet Horsholm, 5:503-20, 1973.
- 8 — DEVLIN, R.M. **Fisiologia vegetal**. 2.ed. Barcelona, Omega, 1975. 468 p.
- 9 — DOSSER, R.C. & HICKS Jr., R. Ortet and season of collection significantly affects rooting of river birch stem cuttings. *Tree Plant. Notes*, Washington, 1975. p. 11-12.
- 10 — ELIASSON, L. & LENNART. Growth regulator in *Populus tremula* L. distribution of auxin and growth inhibitors. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, Denmark, 22(6):1288-1301, 1969.
- 11 — ESAU, K. **Anatomia vegetal**. 2.ed. Barcelona, Omega, 1972.

- 12 — FRETZ, T.A. & SMITH, S.M. **Intermittent mist propagation.** Ohio, Ohio State University Coop. Extension, 1974. 11 p.
- 13 — GARDNER F.E. The relationship between age and rooting in stem cuttings. **Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.**, Gneva, N.Y., 26(101):4, 1930
- 14 — GIROUARD, R.M. Initiation and development of adventitious roots in stem cuttings of **Hedera helix**. Anatomical studies of the juvenile growth phase. **Can. J. Botany**, Ottawa, 45(10):689-99, 1969.
- 15 — HANSEN, J. & NYMANN, E. Root formation of pea cuttings in relation to irradiance of the stock plants. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, Denmark, 32(2):170-73, 1974.
- 16 — HARTMANN, H.T. & KESTER, D.E. **Propagacion de plantas; principios y practicas.** 3.ed. Mxico, Continental, 1967. 693 p.
- 17 — HEAMAN, J.C. & OWENS, J.W. Callus formation and root initiation in stem cuttings of Douglas-fir [**Pseudotsuga menziesii** (Mirb) Franco]. **Can. J. For. Res.**, Ottawa, 121:121-34, 1972.
- 18 — KOMISSAROV, D.A. **Biological basis for the propagation of woody plants by cuttings.** Jerusalem, Israel Program of Scientific Translation, 1969. 250 p.
- 19 — KRICUN, D.P. et alii. **Informe Ao 1979.** Misiones, Estacion Experimental Agropecuaria Misiones, 1979. 30 p.
- 20 — LESHEM, Y. & SCHWARZ, M. Interaction of photoperiod and auxin metabolism in rooting of **Chrysanthemum morifolium** cuttings. **Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.**, Gneva, N.Y., 93:589-94, 1968.
- 21 — LOACH, K. Leaf water potential and the rooting of cuttings under mist. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, Denmark, 191-97, 1977.
- 22 — NANDA, K.K. et alii. Seasonal rooting response of stem cuttings of some forest tree species to auxin. **Ind. For.**, Calcutta, 94(2):154-62, 1968.
- 23 — OKORO, O.O. & GRACE, J. The physiology of rooting in **Populus tremula** cuttings. 1. Carbohydrates and photosynthesis. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, Denmark, 36(2):133-8, 1976.
- 24 — REINES, M. & McALPINE, R.G. The morphology of normal calused and rooted dwarf shoot of slash pine. **Botanical Gazette**, Chicago, 121(2):118-24, 1959.
- 25 — RICHARDSON, D.A. **Bud dormancy and root development in Acer saccharinum;** physiology of forest trees. New York, Ronald Press, 1957. p. 445-65.
- 26 — ROBERTS, A.N. & FUCHIGAMI, L.H. Seasonal changes in auxin effects on rooting of Douglas-fir stem cuttings as related to bud activity. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, Denmark, 38(2):215-21, 1973.
- 27 — SHAPIRO, S. **The role of light in the growth of root primordia in the stem of Lombardy poplar.** The physiology of forest trees. New York, Ronald Press, 1957. p. 445-65.

- 28 — SKOOG, F. Absorption and translocation of auxins. **Amer. J. Bot.**, Miami, 25(3):361-72, 1938.
- 29 — STOUTMEYER, V.T. Humidification and the rooting of green-wood cuttings of difficult plants. **Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.**, Geneva, N.Y., 40:301-4, 1942.
- 30 — VALIO, I.F.M. **Auxinas**. In: FERRI, M.G. Fisiologia vegetal 2. São Paulo, EDUSP, 1979. p. 39-72.
- 31 — VIETEZ, E. The mechanical tissues of cuttings as possible regulators of their capacity for root formation. **An. INIA. Recursos Naturales**, Madrid, 1(65):65-93, 1974.