

AÇÃO DE REGULADORES DE CRESCIMENTO EM ESTACAS DE ILEX PARAGUARIENSIS ST. HILAIRE*.

Cecília Iritani**
Ronaldo Viana Soares***

SUMMARY

This research is an investigation about the effect of growth regulators (indole — 3 — acetic and indole — 3 — butyric acids) in stem cuttings of Ilex paraguariensis St. Hillaire, in two periods of the year, summer-autumn and winter. The vegetative material employed was leafy cuttings. Prior to the application of growth regulators, the base of the cuttings were submitted to a pretreatment with 2N, NaOH solution, for two minutes. Environmental conditions for cuttings survival and root formation process were provided by intermittent mist regulated for 10 seconds aspersions every 8 minutes, and light intensity at 2.0 klux for the most part of the day. Substrate was medium size sand, sifted and washed, with basal heating system for winter months adjusted to 20°C±1.5°C at the base of cuttings.

The treatments stimulated leaf retention, shoots elongation, callus formation and rooting in both trials; the pretreatment by itself, stimulated only shoots elongation in the second experiment.

1. INTRODUÇÃO

A erva-mate é uma das essências de interesse econômico do Sul do Brasil que apresenta problemas com a germinação das sementes. A propagação vegetativa por estquia desta espécie é um meio alternativo, não só para a obtenção de mudas, mas também uma possibilidade futura em termos de melhoramento e mesmo preservação da espécie.

Um dos meios utilizados para acelerar e incrementar o enraizamento das estacas de muitas espécies, é o uso de reguladores do crescimento. Esta pesquisa visa verificar essencialmente a ação de dois reguladores do crescimento, o ácido indol-3-acético e o ácido indol-3-butírico, em estacas com folhas de erva-mate, em condições consideradas como apropriadas para a manutenção da sobrevivência desse material vegetativo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Ação das auxinas nas estacas

AUDUS¹ define os reguladores de crescimento como sensubstâncias sintéticas que, aplicadas aos vegetais, produzem efeitos semelhantes aos dos hormônios produzidos pela planta. O ácido indol-3-acético (AIA) é um dos hormônios naturais e, segundo AUDUS¹, BONNER E GALSTON² e DEVLIN³, é responsável pela indução das raízes e do calo nas estacas, além de influenciar também a retenção foliar e o alongamento dos brotos. Os produtos sintéticos mais usados na prática da estquia, são o próprio AIA, o ácido indol-3-butírico (AIB) e o ácido naftalenoacético (ANA). Dentre eles, o mais indicado é o AIB, devido ao fato de ser menos móvel na planta e ter maior estabilidade química que o AIA, embora seja mais tóxico quando utilizado em altas concentrações (AUDUS¹, HARTMANN e KESTER¹⁰). Para qualquer tipo de resposta induzida pelas auxinas, existe uma concentração ótima, além da qual, elas passam a exercer inicialmente um efeito inibitório e depois um efeito tóxico (DEVLIN³).

Conforme HARTMANN e KESTER¹⁰, um dos meios mais eficazes para a aplicação das auxinas é o uso de um meio sólido como o talco. LEE et al¹⁴ afirmam que o tratamento das estacas com soluções ácidas, se a espécie é de solo básico, ou com soluções básicas, se a espécie é de solo ácido, juntamente com as

* Trabalho baseado em dados parciais da Disertação de Mestrado defendida pela primeira autora.

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

*** Engenheiro Florestal, M.Sc., Ph.D., Professor Titular do Curso de Engenharia Florestal da UFPR, Pesquisador do CNPq.

auxinas, aumentam o enraizamento nas espécies ornamentais.

2.2. Fatores que afetam o enraizamento

As estacas com folhas exigem umidade ambiental e do substrato muito elevadas. Esta condição pode ser satisfeita pelo uso da nebulização intermitente (HARTMANN e KESTER¹⁰). O uso da nebulização intermitente leva à necessidade de um substrato que tenha boa porosidade para permitir boa aeração e retenção e drenagem adequadas. O substrato mais recomendado é a areia de construção (HARTMANN E KESTER¹⁰).

De acordo com SORENSEN E COORTS¹⁷, a nebulização intermitente pode lixivar os nutrientes das folhas, sendo por isso recomendado o uso de adubos foliares que podem ser aplicados através da água de nebulização.

A presença das folhas nas estacas é importante para garantir um bom suprimento de substrato para a obtenção de energia e como fonte produtora de AIA. Isto no entanto torna necessário uma intensidade luminosa mínima para garantir a sobrevivência das estacas e a iniciação radical.

Para espécies umbrófilas, KOMISSAROV¹¹ verificou que as estacas enraizam bem tanto em altas como médias intensidades, ou até mesmo na obscuridade, se houver reservas suficientes. LARCHER¹³, constatou para plantas intactas, que árvores planí e aciculifolias sempreverdes atingem o ponto de compensação sob intensidade luminosas entre 0,3 a 1,5 Klux.

Outros fatores que afetam o enraizamento são: a capacidade individual de enraizamento (BOJARCZUK E JANKIEWICZ², CAMPINHOS E IKEMORI⁶ e DEUBER⁶); a época de coleta e plantio e a posição do ramo na matriz (HARMANN E KESTER¹⁰, KOMISSAROV¹¹, NANDA et al¹⁵); a idade das matrizes e suas condições fisiológicas (BROWN⁴, DEUBER⁶, GARDNER⁹, KOMISSAROV¹¹); o tipo de estaca e suas condições fisiológicas (HARTMANN E KESTER¹⁰).

2.3. Propagação vegetativa da espécie pesquisada

A propagação vegetativa da erva-mate foi estudada na região de Missões, Argentina, por KRICUN et al¹². Segundo esses pesquisadores, as estacas que produziram melhores resultados tinham cerca de 10 cm, 3 a 4 folhas, e foram obtidas de ramos anuais. As melhores épocas de coleta e plantio foram maio, junho, novembro e dezembro. As estacas apresentaram alta mortalidade após o enraizamento, causada por um fungo pertencente do gênero *Colletotrichum*. As condições ambientais para o enraizamento foram dadas através de armações de ramos*, o que confere ao ambiente umidade relativamente alta.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local e Método de coleta

Foram utilizados ramos de 1a 2 anos retirados de indivíduos de 40 anos, vegetando sob sub-bosque limpo, no município de São João do Triunfo, a 780 m s. n. m., 25°34'18" de latitude Sul e 50°05' 56" de longitude Oeste. O clima da região é do tipo CFB, com, temperatura média anual de 17.º C e precipitação média anual de 1.526 mm. O solo podzólico vermelho amarelo distrófico e cambisol distrófico álico com ph 4,5 a 5. Os ramos foram cortados com tesoura de poda das porções médias das matrizes e acondicionados imediatamente em caixas de "isopor".

3.2. Tipos de estacas e plantios

Foram feitos 2 plantios: o primeiro no fim de verão inicio do outono (13.03.80.), utilizando-se estacas feitas da porção terminal dos ramos, com 16 cm de comprimento e 4 folhas reduzidas a $\frac{1}{3}$ do tamanho original; o segundo, no inverno (26.07.80), utilizando-se estacas feitas das porções basais dos ramos, com 16 cm de comprimento e 5 folhas reduzidas a $\frac{1}{3}$. O período de observação foi de 77 dias para ambos os plantios.

* FAHLERJ. Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária. Argentina. Informação pessoal.

3.3. Condições dadas para o enraizamento

O experimento foi feito em laboratório do Curso de Engenharia Florestal da Universidade Federal do Paraná. O substrato utilizado foi areia média de construção peneirada e lavada, esterilizada com brometo de metila.

A umidade do substrato e das estacas foi mantida através de um sistema de nebulização interminente regulado para aspersões de 10 segundos a cada 8 minutos, 16 horas por dia. A temperatura do substrato foi controlada no 2º plantio, através de um sistema de aquecimento à base de circulação de água quente, e mantida a $20^{\circ}\pm 1,5^{\circ}\text{C}$ nas bases das estacas. A intensidade luminosa no interior do laboratório foi mantida em torno de 2,0 klux, 16 horas por dia, sendo a luminosidade natural complementada por um sistema artificial composto por 6 lâmpadas incandescentes e 4 lâmpadas de vapor de mercúrio.

3.4. Tratamento das estacas

Antes do plantio foi feita a assepsia das estacas mediante imersão por uma hora em uma solução do fungicida "Bennlate" e um tratamento prévio da base das estacas com uma solução de NaOH, 2N, por 2 minutos. Os reguladores de crescimento, ácido indol-3-acético e ácido-3-butírico, foram aplicados em seguida, em concentrações de 3.000 e 5.000 ppm, utilizando-se o talco como veículo.

No decorrer do período de enraizamento foram aplicados, uma vez por semana, o adubo foliar "Ouro Verde" juntamente com o espalhante adesivo "Agroceres", (100 ml do adubo + 3,5 ml do espalhante, para 25 l de água do depósito do sistema de nebulização); e o fungicida "Bravonil 500", (150 ml/35 l de água).

3.5. Delineamento estatístico

Em ambos os plantios o delineamento utilizado foi completamente ao acaso. Os dados, transformados em arc seny %, foram analisados através da técnica de contrastes ortogonais, fazendo-se tantos

contrastos quantos necessários para se obter todas as combinações desejadas em cada fator analisado. Todos os testes foram feitos a 95% de probabilidade.

No primeiro plantio foram considerados 5 tratamentos, 3 repetições e 16 estacas/repetição. Os tratamentos fo-

- 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

No segundo plantio foram considerados 6 tratamentos, 4 repetições e 14 estacas/repetição. Os tratamentos foram:

- T₁ — controle
- T₂ — pré-tratamento com NaOH
- T₃ — pré-tratamento com NaOH
+ AIA a 3.000 ppm
- T₄ — pré-tratamento com NaOH
+ AIA a 5.000 ppm
- T₅ — pré-tratamento com NaOH
+ AIB a 3.000 ppm
- T₆ — pré-tratamento com NaOH
+ AIB a 5.000 ppm

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

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Primeiro plantio

As condições ambientais de temperatura e umidade relativa média do laboratório, no período de observação, foram: temperatura máxima 22°C, mínima 18,1°C, média, 21°C; U.R. máxima 98,3%, mínima 51,3%, média 79,8%. Os resultados das variáveis observadas encontram-se no Quadro 1 e as diferenças estatísticas entre os tratamentos, analisados através dos contrastes ortogonais, no Quadro 2.

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

Variáveis	Tratamentos				
	T ₁ (Test.)	T ₂ (AIA 3000)	T ₃ (AIA 5000)	T ₄ (AIB 3000)	T ₅ (AIB 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 2 — Diferenças estatísticas entre as médias, obtidas pela decomposição em contrastes ortogonais (sig. = significativa; n.s. = não significativa)

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.

O menor índice médio de sobrevivência foi apresentado pelas estacas de controle (72.92%) e o maior pelas estacas tratadas com AIA 3.000 ppm. (93.75%). Estes resultados mostraram que a assepsia do substrato com o brometo de metila, a assepsia das estacas com o fungicida "Benlate" e a aplicação do fungicida "Bravonil-500" durante o período de enraizamento, foram eficazes no controle da mortalidade das estacas.

As estacas perdidas apresentaram enegrecimento progressivo da casca e folhas, fato já observado nos testes preliminares. O exame espectrofotométrico* das estacas afetadas mostrou decomposição dos compostos tânicos e o exame patológico**, infestação das estacas por um fungo pertencente ao gênero *Fusarium*.

As auxinas parecem ter favorecido a sobrevivência das estacas embora as diferenças não tenham sido estatisticamente significativas. As auxinas segundo DEVLIN¹, aumentam a capacidade de absorção das células, causam a abscisão foliar quando seu nível é muito baixo, podem estimular ou inibir o alongamento dos brotos e as divisões celulares nos tecidos meristemáticos e induzem a iniciação radical nas estacas. Seria de se esperar, portanto, a atuação significativa das auxinas aplicadas na retenção foliar, no brotamento, na formação do calo e no enraizamento das estacas. A atuação significativa do AIA em relação ao AIB na retenção das folhas, concorda com o exposto por AUDUS¹ que considera o AIA mais móvel que o AIB no corpo vegetal. Deve-se considerar entretanto o reforço dado ao AIA pelo seu nível endógeno. É de se supor que o AIB sendo menos móvel tenha se difundido dos elementos condutores para os tecidos vivos do pecíolo em menor proporção. Seria de se esperar também resultados semelhantes no índice de brotação. AUDUS¹ e HARTMANN E KESTER¹⁰, entretanto, consideram o

AIB mais efetivo que o AIA, podendo induzir as mesmas reações, em concentrações menores, o que pode explicar o fato de não ter ocorrido diferenças significativas na atuação dos mesmos.

No índice de formação de calo, a significância da atuação do AIB a 3.000 ppm. em relação ao tratamento de 5.000 ppm., pode ter resultado do efeito tóxico desta concentração que afetou em parte a sobrevivência. Na iniciação radicial, pode-se verificar melhor atuação das auxinas aplicadas através do número de estacas com mais de 10 raízes. Como ficou evidenciado, o AIB mostrou atuação significativa em relação ao AIA, seja por ter sido retido em maior quantidade na base das estacas ou pela sua maior estabilidade química, permanecendo ativo por um maior lapso de tempo no interior da estaca. O AIA sendo mais efetivo à concentração de 5.000 ppm. significa maior quantidade retida na base das estacas, não apresentando contudo efeito inibitório ou tóxico.

5.2. Segundo plantio

As temperaturas mínimas absolutas, registradas no viveiro experimental do Curso de Engenharia Florestal da Universidade Federal do Paraná, foram: 1.6°C, — 0.5°C e 8.4°C para os meses de agosto, setembro e outubro respectivamente. O sistema de aquecimento utilizado neste plantio evitou que no laboratório ocorressem temperaturas mínimas como as que foram registradas em aberto. As médias de temperatura registradas foram: máxima 19.1°C, 16.2°C média, 17.7°C; as de umidade relativa foram: máxima 97.7%, mínima 49.3% e média 82.5%. Os resultados globais do 2º plantio encontram-se no Quadro 3 e as diferenças estatísticas entre as médias dos tratamentos, decompostas através de contrastes ortogonais, no Quadro 4.

* MOREIRA, E. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. Informação pessoal.

** TOSIN, J.C. Setor de Ciências Agrárias. Univ. Fcd. do Paraná. Informação pessoal.

QUADRO 3 — Médias das variáveis analisadas, por tratamento, observadas no 2º plantio (em percentagem).

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	55,36	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. + 10r.	—	—	9,82	13,39	12,49	14,28

QUADRO 4 — Diferenças estatísticas entre as médias obtidas pela decomposição em contrastes ortogonais (sig. = significativas; n.s. = não significativas).

Variáveis	Contrastes Ortogonais				
	(T ₁ xOutros)	(T ₂ xT ₃ ,xT ₆)	(T ₃ xT ₄ ,xT ₅ ,xT ₆)	(T ₅ xT ₁)	(T ₅ xT 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. + 10r.	sig.	sig.	n.s.	n.s.	n.s.

Verifica-se nesse plano, maior mortalidade das estacas que receberam tratamentos auxínicos. Este fato talvez seja devido à susceptibilidade das mesmas às auxinas em função do fator época. Segundo informação da SECRETARIA DE AGRICULTURA DO PARANÁ¹⁶, a erva-mate tem a sua dormência mais pronunciada no período de maio-junho, e a brotação (FERREIRA FILHO⁸) na primavera, embora os proprietários do local onde foi feita a coleta tenham constatado o início da brotação em julho. A susceptibilidade pode ter ocorrido portanto de um acréscimo das auxinas aplicadas ao nível endógeno de AIA das estacas. Nota-se também neste plantio a tendência de maior sobrevivência das estacas tratadas com as menores concentrações de auxinas e da maior sobrevivência das estacas tratadas com AIA.

Embora não se tenha constatado diferenças significativas na retenção foliar, pode-se dizer que houve interferência positiva das auxinas pelas seguintes comparações: AIA a 3000 ppm, sobrevivência 73,20% e retenção foliar 42,45%; Testemunha, sobrevivência 74,42% e retenção foliar apenas 26,40%; AIB a 5000 ppm, sobrevivência 42,85% e retenção foliar 26,65%.

É interessante ressaltar a atuação significativa do prétratamento com NaOH, estimulando a brotação. Observa-se também na brotação uma tendência de menor resposta com o aumento das concentrações. Uma maior quantidade de auxina aplicada significa maior quantidade retida na base da estaca e maior quantidade de auxina que ascende pela corrente transpiratória, podendo

exercer um efeito tóxico (enegrecimento da base para o ápice) ou um efeito initório na formação do calo ou no alongamento dos brotos. Este conceito pode ser usado para explicar a significância dos resultados das estacas tratadas com a solução de NaOH, e entre as tratadas com AIA e o AIB, na formação do calo.

O menor índice de enraizamento, e menor número de estacas com mais de 10 raízes, apesar da significância estatística da atuação das auxinas, devem ter resultado do fator época e do tipo de estaca. A melhor época de coleta e plantio, segundo KRICUN et al¹², seriam os meses de maio, junho, novembro e dezembro, sendo março e abril melhores que julho e agosto. A variação estacional na capacidade de enraizamento e na resposta aos tratamentos auxínicos, já havia sido constatada por NANDA et al¹⁵, para várias espécies florestais de Angiospermas.

A estaca basal apresenta maior lignificação do anel de esclerênquima externo ao floema, o que, segundo VIEITEZ¹⁸, é um obstáculo à emergência das razões. Por se tratar de uma região mais madura que a apical, pode ter ocorrido também menor capacidade de resposta aos tratamentos auxínicos.

5.3. Viabilidade anatômica das raízes formadas

A análise anatômica das raízes formadas mostrou que o sistema que se desenvolve é semelhante ao de uma planta obtida de sementes (Figs. 1 e 2). As raízes das estacas se ramificam e apresentam pelos absorventes esparsos ou em conjuntos ao longo do seu comprimento (Fig. 3). A análise anatômica revelou na ponta das raízes uma estrutura meristêmática bem definida e capaz de diferenciação efetiva (Figs. 4 e 5).

6. CONCLUSÕES

a) as condições ambientais dadas para o enraizamento foram satisfatórias;

b) os tratamentos auxínicos aumentaram a retenção foliar das estacas e estimularam significativamente a brotação em ambos os plantios;

c) os tratamentos auxínicos estimularam a formação do calo e a iniciação radical, aumentando o número de estacas enraizadas, o número de raízes por estaca, e diminuíram o período requerido para o enraizamento; o AIB foi mais efetivo que o AIA.

d) a aplicação dos ácidos indol-3-acético e indol-3-butírico, propiciam a formação de raízes estruturalmente funcionais nas estacas com folhas de erva-mate.

7. RESUMO

Esta pesquisa visou verificar a ação de 2 reguladores do crescimento nas estacas com folhas de erva-mate, em 2 períodos do ano: verão-outono e inverno. Os reguladores utilizados foram o ácido indol-3-acético e o ácido indol-3-butírico, às concentrações de 3.000 e 5.000 ppm, aplicados via talco. As estacas foram submetidas a um pré-tratamento, mergulhando-se suas bases em uma solução de NaOH 2N por 2 minutos. As condições ambientais para a sobrevivência e enraizamento das estacas foram controladas através de um sistema de nebulização intermitente (10s de aspersões a cada 8 minutos) e um sistema de iluminação artificial complementando a luz natural, perfazendo um total de 2,0 klux para a maior parte do dia. Ambos os sistemas permaneceram em funcionamento 16 horas diariamente. No segundo plantio, a temperatura do substrato foi mantida permanentemente a 20°C + 1,5°C, na base das estacas.

Os tratamentos estimularam a brotação, a formação do calo e o enraizamento em ambos os plantios, aumentando também a retenção foliar. O pré-tratamento com a solução de NaOH, por si, estimulou somente a brotação no segundo plantio.

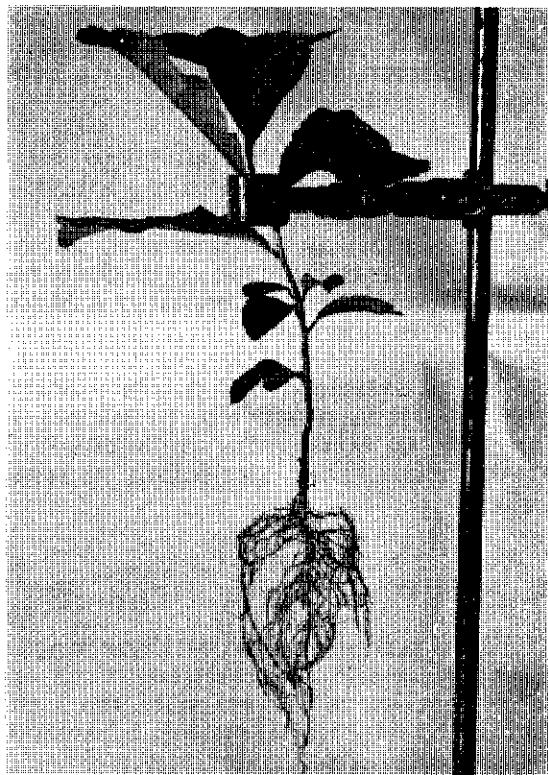


Fig. 1: Muda obtida de semente, entre 2 e 3 meses de idade.

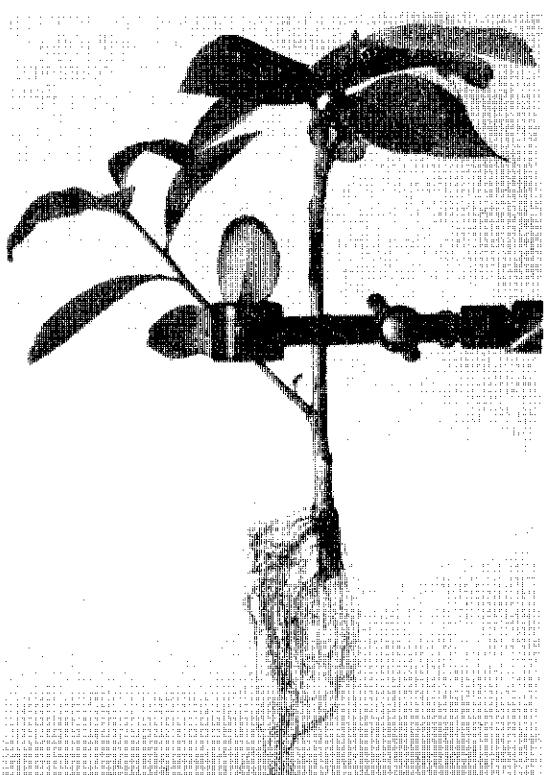


Fig. 2: Estaca tratada, 1º plantio, cerca de 6 meses após o transplante.

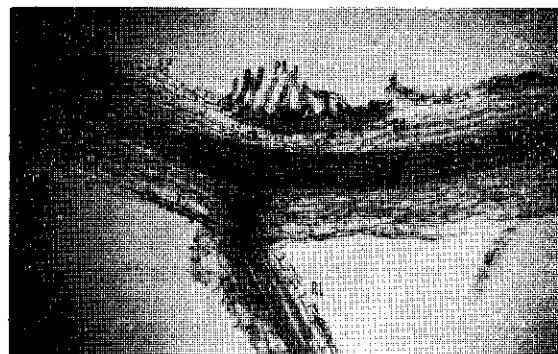


Fig. 3: Pelos absorventes de uma raiz adventícia de estaca, 6 meses após o transplante. EP-epiderme; CO-cortex; CC-cilindro central; PA-pelos absorventes; RL-raiz lateral. Seção longitudinal mediana (150 x).



Fig. 4: Ponta de uma raiz adventícia de uma estaca tratada com AIA a 5000 ppm. CF-coifa; DC-dermatocaliptogênio; PE-periblema; PL-pleromia; DP-protoderme. Seção longitudinal mediana (475 x).

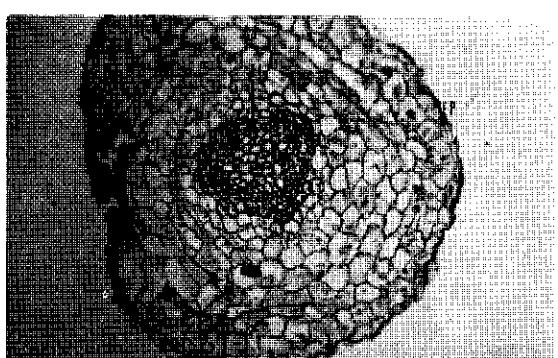


Fig. 5: Corte transversal de uma raiz adventícia de uma estaca tratada com AIB a 5000 ppm. EP-epiderme; CO-cortex; X-xilema FL-floema. Seção transversal (240 x).