

## MINIESTAQUIA DE ERVA-MATE EM QUATRO ÉPOCAS DO ANO

### MINICUTTING TECHNIQUE OF YERBA MATE IN FOUR SEASONS OF THE YEAR

Francielen Paola de Sá<sup>1</sup> Deborah Cristina Portes<sup>2</sup> Ivar Wendling<sup>3</sup>  
Katia Christina Zuffellato-Ribas<sup>4</sup>

#### RESUMO

*Ilex paraguariensis* é uma espécie florestal que apresenta múltiplas potencialidades, sendo utilizada na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética. Contudo, a propagação seminal da espécie é limitada devido à baixa (inferior a 20%) e desuniforme germinação, além do longo período de estratificação das sementes (de quatro a seis meses) necessário para a quebra da dormência embrionária. Diante do potencial uso da miniestaquia como técnica alternativa para superar tais limitações, objetivou-se avaliar o efeito do ácido indolbutírico (IBA) no enraizamento de miniestacas de erva-mate coletadas nas quatro épocas do ano (de julho/2014 a maio/2015). As miniestacas foram confeccionadas com 6 cm ( $\pm$  1 cm) de comprimento e duas folhas reduzidas à metade e, a porção basal dos propágulos foi imersa durante 10 segundos em diferentes soluções hidroalcoólicas de ácido indolbutírico (0, 2000, 4000, 6000 e 8000 mg L<sup>-1</sup>). Após 90 dias da permanência do material vegetal em casa de vegetação climatizada, foram avaliados: porcentagem de enraizamento, número de raízes e comprimento médio das três maiores raízes/miniestaca, porcentagem de calogênese, retenção foliar, brotações desenvolvidas e mortalidade. A primavera foi a época mais promissora, proporcionando aproximadamente 70% de enraizamento e, aliada à aplicação de 8000 mg L<sup>-1</sup> de IBA, as miniestacas atingiram o maior comprimento (4,3 cm) e número de raízes (9,1) bem como, a menor taxa de calogênese (0%). A coleta das miniestacas na primavera e a aplicação de 8000 mg L<sup>-1</sup> de IBA é a mais indicada para miniestaquia de erva-mate.

**Palavras-chave:** clonagem; *Ilex paraguariensis*; regulador vegetal; ácido indolbutírico.

#### ABSTRACT

*Ilex paraguariensis* is a forest species that has multiple potentialities, being used in the food, pharmaceutical and cosmetic industries. However, the seminal propagation of the species is difficult due to its low (below 20%) and non-uniform germination and the long period (four to six months) stratification of seeds needed for the breaking of embryo dormancy. The minicutting technique is an alternative to overcome such limitations, therefore this study aimed to evaluate the effect of indolebutyric acid (IBA) on rooting of yerba mate minicuttings collected at different seasons (July/2014 to May/2015). Minicuttings were prepared with 6 cm ( $\pm$  1 cm) long and two leaves reduced by half and, the basal portion of the propagules was immersed for 10 second in different hydroalcoholic solutions of IBA (0,200,400,6000 and 8000 mg L<sup>-1</sup>). After 90 days of installation of the experiments, we evaluated the percentage of rooting, root number and average length of three major roots, percentage of callogenesis, leaf retention, developed shoots and mortality. The spring was the most promising season, providing approximately 70% of rooting and coupled the application of 8000 mg L<sup>-1</sup> of the IBA the minicuttings reached the greatest length (4.3 cm) and root number (9.1) as well as the lower callus induction rate (0%). The minicutting collection in the spring and 8000 mg L<sup>-1</sup> of the IBA is the

1 Engenheira Florestal, MSc., Doutoranda em Agronomia, Produção Vegetal, Universidade Federal do Paraná, Rua dos Funcionários, 1540, Cabral, CEP 80035-050, Curitiba (PR), Brasil. francielenpaola@ufpr.br

2 Engenheira Agrônoma, Mestranda em Agronomia, Produção Vegetal, Universidade Federal do Paraná, Rua dos Funcionários, 1540, Cabral, CEP 80035-050, Curitiba (PR), Brasil. deborahcportes@gmail.com

3 Engenheiro Florestal, Dr., Pesquisador da Embrapa Florestas, Estrada da Ribeira, km 111, s/n, CEP 83411-000, Colombo (PR), Brasil. ivar.wendling@embrapa.br

4 Bióloga, Dr<sup>a</sup>., Professora Titular do Departamento de Botânica, Universidade Federal do Paraná, Av. Cel. Francisco H. dos Santos, s/n, Jardim das Américas, CEP 80050-540, Curitiba (PR), Brasil. kazu@ufpr.br

Recebido para publicação em 21/10/2016 e aceito em 11/09/2017

most indicated for minicutting technique of yerba mate.

**Keywords:** cloning; *Ilex paraguariensis*; plant growth regulator; indolebutyric acid.

## INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.), espécie pertencente à família Aquifoliaceae, possui importância socioeconômica, principalmente no sul do Brasil e países limítrofes, como Argentina, Uruguai e Paraguai, sendo utilizada na indústria alimentícia para produção de chimarrão, tererê e chá-mate (CUQUEL; CARVALHO; CHAMMA, 1994). É potencialmente útil na indústria farmacêutica por conter uma variedade de compostos com propriedades neuroprotetivas, anti-inflamatórias, antioxidantes e diuréticas (LIMA et al., 2014; SOUZA et al., 2015).

Sua propagação via seminal é dificultada devido à dormência embrionária, reduzida e desuniforme germinação e, baixa qualidade genética e fisiológica das sementes (CARVALHO, 1994; FOWLER; STURION, 2000). Além disso, os plantios de erva-mate provenientes de sementes coletadas sem critérios técnicos apresentam desenvolvimento heterogêneo, implicando em quedas na produtividade e qualidade do produto final (WENDLING et al., 2009).

Diante disso, a propagação vegetativa constitui-se em uma alternativa para superação das dificuldades da propagação sexuada, permitindo a multiplicação de genótipos superiores e obtenção de indivíduos geneticamente idênticos à planta-matriz, contribuindo com a uniformidade de populações e precocidade na produção (HARTMANN et al., 2011).

A miniestaquia é uma das técnicas de propagação vegetativa que permite o aproveitamento do potencial juvenil dos propágulos para indução do enraizamento (FERRIANI; ZUFFELLATO-RIBAS; WENDLING, 2010) e consiste na utilização de brotações de plantas propagadas vegetativamente ou via seminal que são acondicionadas no leito de enraizamento até a completa formação da muda. Contudo, o sucesso da miniestaquia está intrinsecamente ligado ao desenvolvimento de um sistema radicial adequado.

A formação do sistema radicial adventício é um processo complexo, principalmente para espécies de plantas lenhosas, sendo afetada por fatores endógenos, tais como características genéticas, idade e qualidade dos propágulos, além de fatores externos como tratamento com reguladores vegetais e época do ano (SORIN et al., 2005; NEGISHI et al., 2014; ZHANG et al., 2016).

A época do ano é um dos fatores que pode afetar a indução do enraizamento adventício dos propágulos vegetais, devido às variações nas condições ambientais, tais como fotoperíodo e temperatura, que podem influenciar as condições fisiológicas da planta-matriz, principalmente no que se refere à variação do balanço hormonal endógeno ocorrido ao longo das estações do ano (ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001; PEÑA; ZANETTE; BIASI, 2015). Além disso, a identificação da época mais favorável ao enraizamento nos diferentes períodos do ano poderá contribuir com a adoção de estratégias de manejo mais adequados, visando otimizar a produção de mudas (BRONDANI et al., 2010).

A aplicação de substâncias promotoras do enraizamento pode acelerar o processo de formação do sistema radicial, aumentando o índice de enraizamento, a velocidade de formação, qualidade, quantidade e uniformidade das raízes (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005). O ácido indolbutírico (IBA) é uma das principais substâncias indutoras, desencadeando a iniciação do enraizamento próximo à região do corte do propágulo por conta do transporte polar (DIAS et al., 2012; PIRES; WENDLING; BRONDANI, 2013; TAIZ; ZEIGER, 2013). Contudo, as concentrações recomendadas para aplicação dos reguladores vegetais podem variar de acordo com a espécie, estado de maturação do propágulo, condições ambientais, entre outros fatores (BORTOLINI et al., 2008; BADILLA et al., 2016).

Na literatura, foi relatado o estudo com miniestaquia de erva-mate a partir de material de origem seminal (WENDLING; SOUZA JUNIOR, 2003), bem como o enraizamento de miniestacas desta espécie sob diferentes ambientes de enraizamento (BRONDANI et al., 2008). Entretanto, na literatura científica são inexistentes as informações a respeito da influência da época de coleta e do IBA no enraizamento de miniestacas de erva-mate provenientes de minicepas propagadas via estaquia convencional de árvore de dez anos.

Diante do exposto e da necessidade do aprimoramento da miniestaquia da erva-mate como alternativa à superação dos entraves da propagação seminal, este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da

aplicação de diferentes concentrações de IBA no enraizamento de miniestacas de erva-mate coletadas em quatro épocas do ano.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Propagação de Espécies Florestais da Embrapa Florestas, situada em Colombo-PR (25°20' S e 49°14' W, 950 m), segundo a classificação de Köppen, o clima da região é temperado do tipo Cfb.

Como fonte de propágulos para a miniestaquia foram utilizadas minicepas de erva-mate propagadas pelo processo de estaquia convencional realizado em árvores selecionadas de 10 anos de idade, oriundas de um teste de procedências e progênies. As minicepas foram mantidas em estufa, sob sistema semi-hidropônico tipo canaletão com areia lavada, as quais receberam solução nutritiva composta por 65 mg L<sup>-1</sup> de fosfato de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 558 mg L<sup>-1</sup> de sulfato de Mg<sup>2+</sup>, 517 mg L<sup>-1</sup> de nitrato de K<sup>+</sup>, 200 mg L<sup>-1</sup> de sulfato de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 456 mg L<sup>-1</sup> de cloreto de Ca<sup>2+</sup>, 617 mg L<sup>-1</sup> de nitrato de Ca<sup>2+</sup>, 8,6 mg L<sup>-1</sup> de ácido bórico, 3,7 mg L<sup>-1</sup> de sulfato de Mn, 0,18 mg L<sup>-1</sup> de molibdato de Na<sup>+</sup>, 0,74 mg L<sup>-1</sup> de Sulfato de Zn e 81,8 mg L<sup>-1</sup> de Hidro Fe - pó, conforme recomendações de Wendling et al. (2007) distribuída via gotejamento três vezes ao dia, a uma vazão total de 5 L m<sup>-2</sup>.

As coletas do material vegetal ocorreram nas quatro épocas do ano, realizadas nas seguintes datas: 21/07/2014 (inverno), 04/11/2014 (primavera), 16/02/2015 (verão), 23/05/2015 (outono). Os dados de temperatura máxima, média e mínima do ar verificados na estufa, no período de coleta das miniestacas, estão apresentadas na Figura 1.

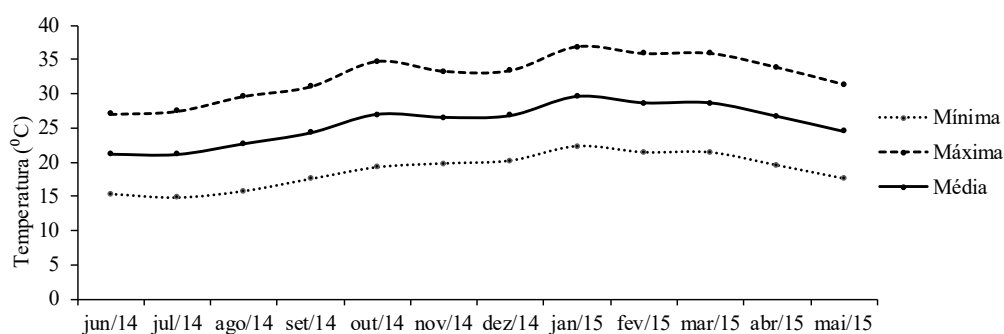


FIGURA 1: Temperaturas mínimas, máximas e médias (°C) em estufa (Colombo-PR) entre os meses de junho/2014 a maio/2015.

FIGURE 1: Minimum temperatures, maximum and medium (°C) in a greenhouse (Colombo-PR) between the months of June/2014 to May/2015.

As miniestacas foram confeccionadas com comprimento médio de 6 cm ( $\pm 1$  cm), contendo um par de folhas reduzidas à metade, a fim de evitar o efeito “guarda-chuva”, o qual pode reduzir a eficiência da nebulização, pelo fato das folhas formarem uma barreira física impedindo o molhamento do substrato, além de causar perda excessiva de água pela transpiração foliar (ALFENAS et al. 2009). Procedeu-se o corte reto no ápice e corte em bisel na porção basal, sendo as miniestacas mantidas em caixa de isopor contendo água para reduzir perdas por desidratação, até o momento da aplicação dos tratamentos.

Aproximadamente 1,0 cm das bases das miniestacas foram mergulhadas por 10 segundos em soluções hidroalcoólicas (50% v/v) em diferentes concentrações de ácido indolbutírico (IBA – Merck®): 0, 2000, 4000, 6000 e 8000 mg L<sup>-1</sup>. A testemunha (0 mg L<sup>-1</sup> IBA) foi preparada somente com a utilização de água destilada e álcool (50% v/v), sem adição do regulador vegetal IBA. O plantio foi realizado em tubetes de polipropileno com 55 cm<sup>3</sup>, contendo substrato comercial Tropstato Florestal®, composto por fibra de coco, vermiculita, carvão vegetal e casca de pinus em proporções não informadas pelo fabricante. As miniestacas foram acondicionadas em casa de vegetação climatizada com nebulização intermitente com duração de 30 segundos (80% de umidade relativa e temperatura de 20 a 30° C) na Embrapa Florestas, em Colombo-PR.

Após 90 dias da instalação de cada experimento foram avaliadas as seguintes variáveis: porcentagem de enraizamento (miniéstacas vivas que apresentaram raízes de pelo menos 1 mm de comprimento), número de raízes por miniéstacas; comprimento médio das três maiores raízes por miniéstaca enraizada (cm); porcentagem de calogênese (miniéstacas vivas, sem raízes, com formação de massa indiferenciada na base); porcentagem de retenção foliar (miniéstacas que mantiveram as folhas originais no leito de enraizamento até o momento da avaliação), porcentagem de brotações desenvolvidas e porcentagem de mortalidade (miniéstacas que apresentavam-se necrosadas).

Os dados foram analisados segundo um delineamento inteiramente casualizado com esquema fatorial 4 x 5 (quatro estações do ano x cinco concentrações de IBA) com quatro repetições. A quantidade de miniéstacas por unidade experimental variou segundo a quantidade do material vegetal disponível em cada estação. Na primavera e inverno foram utilizadas 18 miniéstacas por unidade experimental e, no outono e verão 20 miniéstacas por unidade experimental.

As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett ( $p < 0,05$ ); efetuou-se a transformação de dados segundo a equação  $\arcsen(x/100)0,5$  para a porcentagem de sobrevivência e calogênese, pois estas não atenderam aos pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. As variáveis cujas variâncias se mostraram homogêneas foram submetidas à análise de variância ( $p < 0,01$  e  $p < 0,05$ ) e as que apresentaram diferenças significativas pelo teste de F tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey (variáveis qualitativas) e por regressão polinomial (variáveis quantitativas), utilizando-se o programa estatístico Assistat versão 7.7.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a variável porcentagem de enraizamento, não houve interação significativa ( $p > 0,05$ ) entre as estações do ano e as concentrações de IBA, indicando que esses fatores são independentes. A primavera foi a época mais favorável ao enraizamento das miniéstacas, sendo estatisticamente superior às demais épocas do ano, promovendo em média 68,9% de enraizamento (Figura 2).

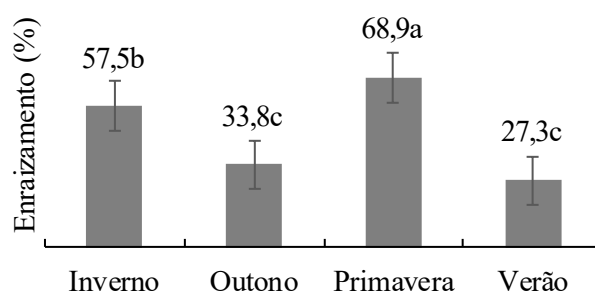


FIGURA 2: Porcentagem de enraizamento de miniéstacas de erva-mate coletadas nas quatro épocas do ano (2014-2015). Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras verticais correspondem ao erro padrão da média.

FIGURE 2: Percentage of rooting in minicuttings of yerba mate collected in the four seasons (2014-2015). Means followed by the same letter do not differ by Tukey test at 5% probability. Vertical bars indicate the standard error of the mean.

Este resultado contraria o esperado, visto que, na primavera, a erva-mate apresenta-se no início da fase reprodutiva com a formação de flores e, de acordo com Taiz e Zeiger (2013), estas estruturas são consideradas drenos dos fotoassimilados que concorrem com a formação de raízes adventícias, evento não confirmado no presente estudo, tendo em vista o maior enraizamento durante a floração. Contudo, possivelmente, as reservas acumuladas ao longo das estações mais frias (outono e inverno), durante o período de repouso vegetativo, foram disponibilizadas no início da fase reprodutiva contribuindo para a iniciação radicial.

Comportamento semelhante foi observado por Ferriani et al. (2011) que registraram uma das maiores taxas de enraizamento (cerca de 45%) em miniestacas de *Piptocarpha angustifolia* coletadas na primavera. Da mesma forma, Nery, Zuffellato-Ribas e Koehler (2014) verificaram que a primavera foi a época mais propícia ao enraizamento de *Psychotria nuda*. Estes autores indicam que as condições fisiológicas são mais favoráveis ao enraizamento nas estações mais quentes, devido à aceleração do metabolismo. A maior síntese de auxinas ocorre na primavera e no verão e, a temperatura tem efeito direto sobre o metabolismo da planta e, quanto maior, mais aceleradas serão as reações químicas (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Com relação ao efeito do ácido indolbutírico, observou-se um aumento linear crescente do enraizamento em relação às concentrações do regulador vegetal, indicando o efeito positivo da aplicação exógena da auxina na formação do sistema radicial, visto que a testemunha alcançou 38,6% de enraizamento e, com a aplicação de 8000 mg L<sup>-1</sup> de IBA houve 54,0% de enraizamento (Figura 3).

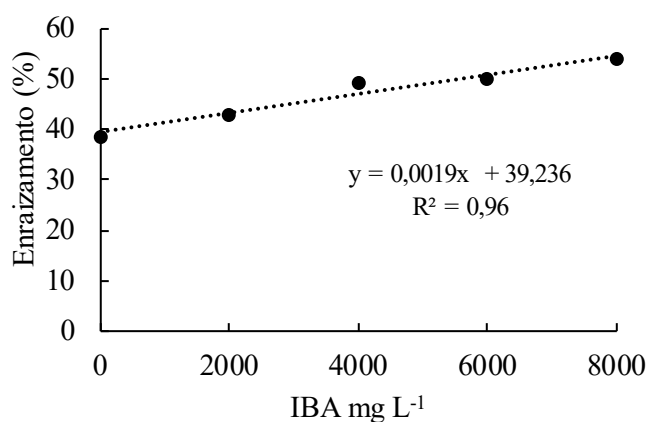


FIGURA 3: Porcentagem de enraizamento de miniestacas de erva-mate submetidas a diferentes concentrações de IBA (ácido indolbutírico).

FIGURE 3: Percentage of rooting in minicuttings of yerba mate submitted to different concentrations of IBA (indolebutyric acid).

Os resultados de enraizamento observados no presente estudo foram inferiores àqueles verificados por Wendling e Souza Junior (2003), os quais registraram em torno de 75% de enraizamento para miniestacas de erva-mate, sem a necessidade de aplicação de reguladores vegetais. Isto pode ser explicado, em parte, pelo grau de juvenilidade das minicepas, visto que estes autores utilizaram minicepas oriundas de mudas juvenis propagadas via sementes e, neste estudo, as minicepas foram provenientes de mudas estaqueadas de árvores de 10 anos.

Desta forma, as diferenças entre o estado de maturação do propágulo vegetativo podem ter influenciado na predisposição ao enraizamento. O material vegetal que contém características juvenis possui condições fisiológicas, tais como o balanço hormonal, que favorecem o enraizamento, sendo que a adição de reguladores vegetais pode ter efeito inibitório na indução radicial (WENDLING; SOUZA JUNIOR, 2003; FERRIANI et al., 2011; HARTMANN et al., 2011). No entanto, a demanda exógena de auxina para o enraizamento, verificada neste estudo, pode estar associada à idade cronológica da planta-matriz, principalmente quanto à concentração de auxina insuficiente para promover a indução radicial, bem como possivelmente à presença de inibidores e ausência de cofatores do enraizamento.

Na literatura é relatada a influência da maturação da planta-matriz na capacidade de enraizamento. De acordo com Dias et al. (2012), miniestacas de mudas provenientes de sementes enraízam facilmente, enquanto outras oriundas de plantas mais velhas podem enraizar esporadicamente ou não enraizar. Esse fato foi confirmado por Alcantara et al. (2007), que avaliaram o efeito da idade das mudas no enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* e, constataram a diminuição no enraizamento com o aumento da idade das mudas.

Em relação ao número de raízes houve interação altamente significativa ( $p < 0,01$ ) entre a época em que as miniestacas foram coletadas e a aplicação de IBA. Para todas as estações, a aplicação de IBA beneficiou a indução do maior número de raízes, principalmente nas miniestacas coletadas no outono (14,5) e primavera (9,1), tratadas com  $8000 \text{ mg L}^{-1}$  de IBA, valores superiores ao alcançado pela testemunha que apresentou em média 3,9 raízes/miniestaca (Figura 4).

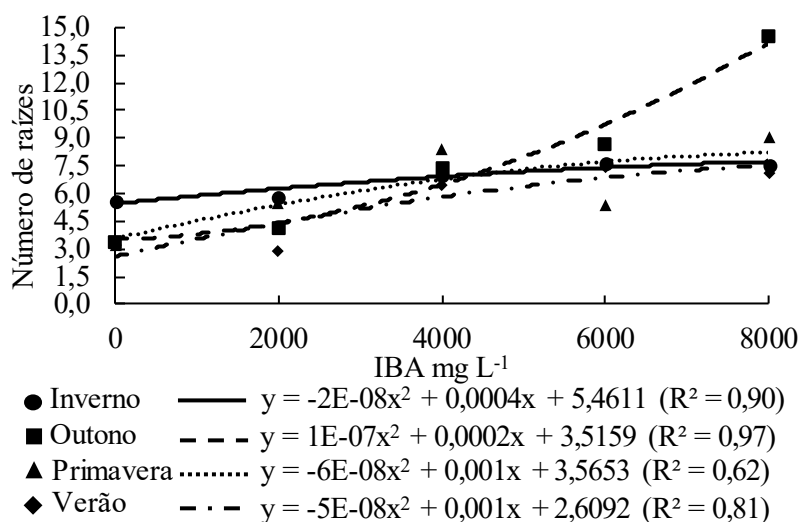


FIGURA 4: Número de raízes em miniestacas de erva-mate submetidas a diferentes concentrações de IBA (ácido indolbutírico) e épocas de coleta (2014-2015).

FIGURE 4: Number of roots in minicuttings of yerba mate submitted to different concentrations of IBA (indolebutyric acid) and collection season (2014-2015).

Estes resultados sustentam a hipótese de que as quantidades endógenas de auxinas foram insuficientes para indução de um sistema radicular vigoroso. A concentração endógena do ácido indolacético (IAA), hormônio responsável pela formação de raízes, pode ser abundante, escassa ou mesmo ausente, de acordo com a condição fisiológica, genética, nível de IAA oxidase e época de coleta dos própagulos (PIZZATO et al., 2011; HARTMANN et al., 2011).

Além do enraizamento, a qualidade do sistema radicular é outro fator de extrema importância para sobrevivência da muda, características observadas nas miniestacas coletadas na primavera e outono. De acordo com Reis et al. (2000), mudas com melhor sistema radicular fixam-se melhor ao solo quando transplantadas, aumentando as chances de absorção de água e nutrientes e, conseqüentemente, sobrevivência e desenvolvimento.

Para o comprimento médio das três maiores raízes, houve interação significativa ( $p < 0,01$ ) entre os fatores analisados. O outono foi a única época de coleta que proporcionou o maior comprimento de raiz (4,2 cm) com o uso de  $6000 \text{ mg L}^{-1}$  de IBA, seguido da redução desta variável (3,3 cm) com  $8000 \text{ mg L}^{-1}$  (Figura 5). Nas demais estações, a concentração de  $8000 \text{ mg L}^{-1}$  foi a que proporcionou os maiores comprimentos de raiz.

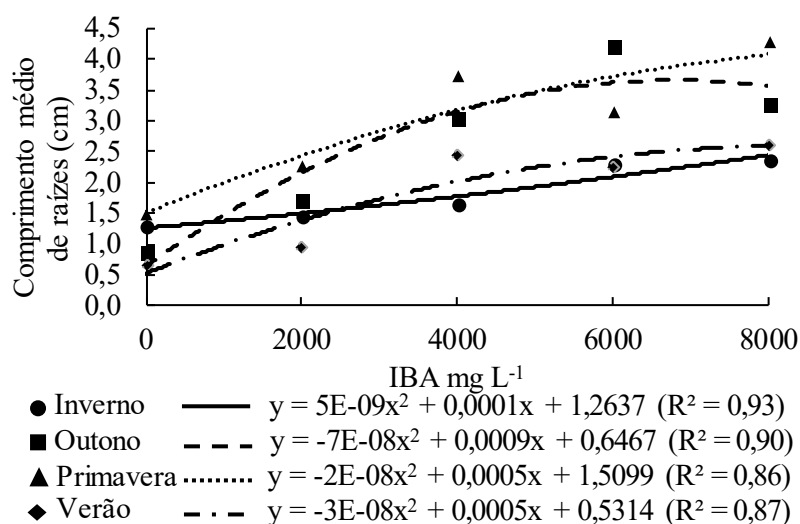


FIGURA 5: Comprimento das três maiores raízes em miniestacas de erva-mate submetidas a diferentes concentrações de IBA (ácido indolbutírico) e épocas de coleta (2014-2015).

FIGURE 5: Length of the three major roots in minicuttings of yerba mate submitted to different concentrations of IBA (indolebutyric acid) and collection season (2014-2015).

A aplicação exógena de auxina tem efeito positivo na formação de raízes, contribuindo com a formação de um sistema radicial vigoroso, aumentando a porcentagem e a uniformidade do enraizamento, reduzindo o tempo de permanência das mudas no leito de enraizamento (FACHINELLO et al., 1994; GUO et al., 2009).

Novamente verificou-se o efeito positivo da coleta efetuada no início do período reprodutivo (primavera), possivelmente devido ao estado fisiológico favorável da minicepa para coleta das brotações durante esta época. Além disso, é relatado na literatura que, nessa época, têm-se os níveis adequados de carboidratos e amido nas miniestacas, os quais estão positivamente relacionados ao enraizamento (ASL-MOSHTAGHI; SHAHSVAR, 2010).

Com relação à porcentagem de calogênese, houve interação significativa ( $p < 0,01$ ) entre os fatores analisados, sendo que o maior valor (27,5%) ocorreu nas miniestacas coletadas no outono e tratadas com 2000 mg L<sup>-1</sup> de IBA (Figura 6). Em todas as estações, exceto no inverno, a porcentagem de miniestacas com calos foi inversamente proporcional à concentração de IBA, uma vez que as menores porcentagens de calogênese (0% na primavera, 2,5% no verão e 3,8% no outono) foram observadas nas miniestacas tratadas com 8000 mg L<sup>-1</sup>.

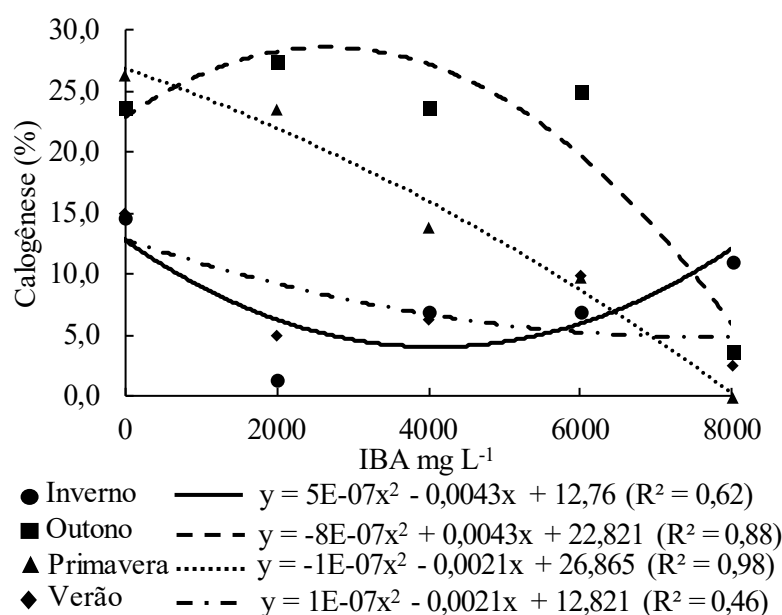


FIGURA 6: Porcentagem de calogênese em miniestacas de erva-mate submetidas a diferentes concentrações de IBA (ácido indolbutírico) e épocas de coleta (2014-2015).

FIGURE 6: Percentage of callogenesis in minicuttings of yerba mate submitted to different concentrations of IBA (indolebutyric acid) and collection season (2014-2015).

Contudo, na primavera e verão, as maiores taxas de calogênese (15 e 26,4%, respectivamente) ocorreram quando não houve aplicação exógena do regulador vegetal. De maneira semelhante, Lattuada, Spier e Souza (2011) verificaram a ausência de calos em estacas de *Eugenia uniflora* quando houve aplicação de IBA, enquanto na testemunha 7,6% das estacas apresentaram a proliferação de calos.

A formação inicial das raízes adventícias pode ocorrer a partir do calo e, este se caracteriza como massa irregular de células parenquimáticas em diferentes estádios de lignificação e, sua formação pode indicar baixa juvenildade do material propagado, condições ambientais favoráveis ao enraizamento, equilíbrio entre a concentração endógena de auxina e citocina (HARTMANN et al., 2011; IKEUCHI; SUGIMOTO; IWASE, 2013; NASRI et al., 2015).

O desenvolvimento das raízes adventícias engloba três estádios: a desdiferenciação que envolve a formação de grupos de células meristemáticas, a diferenciação destas células em primórdios radiciais e, o alongamento e emergência das novas raízes, incluindo a formação do tecido vascular entre os primórdios radiciais e o tecido vascular (PACURAR; PERRONE; BELLINI, 2014). Desta forma, provavelmente, o IBA acelerou o processo de diferenciação celular nas miniestacas de erva-mate, contribuindo com a surgimento da rizogênese adventícia a partir das células parenquimáticas indiferenciadas.

Quanto à porcentagem de retenção foliar, não houve interação significativa ( $p > 0,05$ ) entre os fatores época de coleta e concentração de IBA. Foram observadas diferenças altamente significativas apenas das épocas do ano, sendo que o maior valor (76,1%) ocorreu nas miniestacas coletadas na primavera, diferindo significativamente das demais épocas, exceto do inverno (Figura 7).



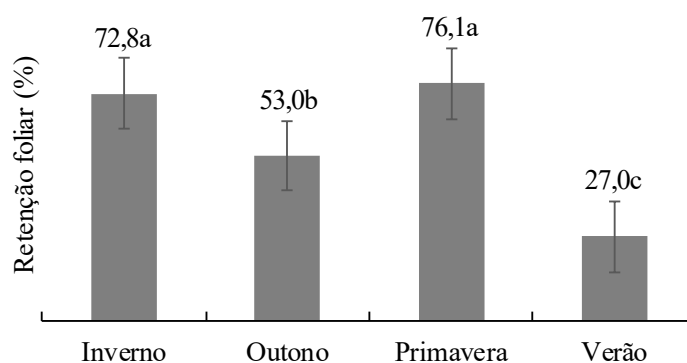


FIGURA 7: Porcentagem de retenção foliar em miniestacas de erva-mate coletadas em diferentes épocas do ano (2014-2015). Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras verticais correspondem ao erro padrão da média.

FIGURE 7: Percentage of leaf retention in minicuttings of yerba mate collected in the four seasons (2014-2015). Means followed by the same letter do not differ by Tukey test at 5% probability. Vertical bars indicate the standard error of the mean.

Observou-se a relação direta entre enraizamento e retenção foliar, uma vez que, cerca de 60% das miniestacas que mantiveram as folhas originais retidas, apresentavam-se enraizadas. Compostos presentes nas folhas e gemas (auxinas e cofatores) são translocados via floema para a base das estacas estimulando o enraizamento (BONA; BIASI, 2010). Aliado a isso, provavelmente, o enraizamento observado neste estudo foi beneficiado pelos teores de carboidratos presentes nas miniestacas. Os carboidratos podem influenciar positivamente o enraizamento atuando em elementos estruturais e como recurso energético, além de aumentar o efeito estimulante do IBA (HUSEN; PAL, 2007; ASLMOSHTAGHI; SHAHSAVAR, 2010; DIAS; ONO; RODRIGUES, 2011; NASRI et al., 2015).

Quanto à porcentagem de brotações nas miniestacas de erva-mate, não houve interação significativa ( $p > 0,05$ ) entre os fatores analisados. Houve efeito altamente significativo apenas das épocas do ano. O outono proporcionou o maior desenvolvimento de brotações (46,0%), valor estatisticamente idêntico ao inverno (38,9%). Esse resultado era esperado, visto que nas estações frias (outono e inverno) ocorre o crescimento vegetativo da erva-mate com emissão de gemas, folhas jovens e novas brotações.

Com relação à mortalidade, a análise de variância demonstrou que não houve interação significativa ( $p > 0,05$ ) entre os fatores. A mortalidade foi altamente influenciada pela época do ano, sendo o maior valor (55,3%) observado nas miniestacas coletadas no verão (Figura 8). Nesta época, apesar das condições de temperatura e umidade controladas no ambiente de enraizamento, observou-se a oxidação e a precoce abscisão foliar.

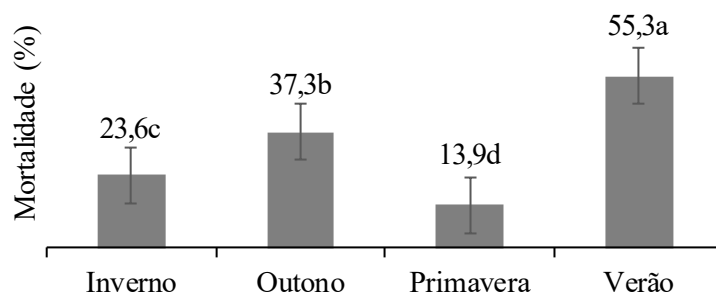


FIGURA 8: Porcentagem de mortalidade em miniestacas de erva-mate coletadas em quatro épocas do ano (2014-2015). Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras verticais correspondem ao erro padrão da média.

FIGURE 8: Percentage of mortality in minicuttings of yerba mate collected in four seasons (2014-2015). Means followed by the same letter do not differ by Tukey test at 5% probability. Vertical bars indicate the standard error of the mean.

Conforme mencionado anteriormente, apenas 27% das miniestacas coletadas no verão possuíam as folhas originais retidas, sendo que nas primeiras semanas após a instalação do experimento foi observada a queda das folhas. Desta forma, possivelmente não houve tempo hábil de deslocamento, das folhas para a base das miniestacas, de fotoassimilados e outras substâncias essenciais para suprir as necessidades metabólicas das miniestacas resultando assim em maior mortalidade.

Além disso, a dessecação é outro fator que pode ter influenciado na mortalidade, uma vez que esta é uma das principais causas de morte caulinar, decorrente da ausência de raízes que impede a absorção de água em quantidade suficiente e da excessiva perda de água por transpiração das folhas e brotações (LIMA et al., 2011).

A mortalidade foi influenciada significativamente pelo uso do regulador vegetal, apresentando comportamento linear crescente com o aumento das concentrações de IBA sendo que o maior valor observado ocorreu para o material tratado com 8000 mg L<sup>-1</sup> (39,1%) (Figura 9). De acordo com Hartmann et al. (2011), o aumento da concentração da auxina, por meio de sua aplicação exógena, produz efeito estimulador na indução de raízes até um ponto de máximo, a partir do qual qualquer acréscimo do nível da auxina se torna inibitório.

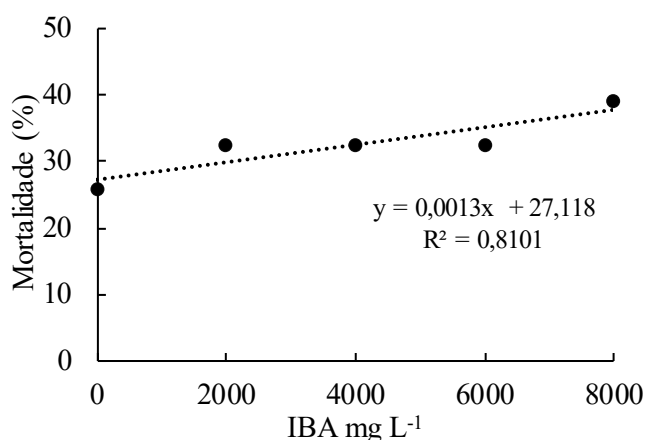


FIGURA 9: Porcentagem de mortalidade de miniestacas de erva-mate submetidas a diferentes concentrações de IBA (ácido indolbutírico).

FIGURE 9: Percentage of mortality in minicuttings of yerba mate submitted to different concentrations of IBA (indolebutyric acid).

Bitencourt et al. (2009) avaliaram o enraizamento de estacas de erva-mate oriundas de brotações do ano e verificaram 41,3% de mortalidade, sem influência significativa do ácido indolbutírico. Desta forma, os dados de mortalidade registrados no presente estudo estão condizentes aos existentes na literatura para cultura de erva-mate.

## CONCLUSÕES

A adição exógena de ácido indolbutírico (IBA) é necessária para indução de maior enraizamento, número e comprimento de raízes em miniestacas de erva-mate, sendo a aplicação de 8000 mg L<sup>-1</sup> a mais indicada.

A primavera é a época do ano mais apropriada para a coleta dos própagulos de erva-mate por favorecer o desenvolvimento de um sistema radicial mais vigoroso.

## REFERÊNCIAS

- ALCANTARA, G. B. et al. Efeito da idade da muda e da estação do ano no enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 31, n. 3, p. 399-404, 2007.
- ALFENAS, A. C. et al. **Clonagem e doenças do Eucalipto**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2009. 500 p.
- ASLMOSHTAGHI, E.; REZA-SHAHSAVAR, A. Endogenous soluble sugars, starch contents and phenolic compounds in easy and difficult to root olive cuttings. **Journal of Biological & Environmental Sciences**, [s. l.], v. 4, n. 11, p. 83-86, 2010.
- BADILLA, Y. et al. IBA efficiency on mini-cutting rooting from Teak (*Tectona grandis* Linn F.) clones. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 40, n. 3, p. 477-485, 2016.
- BITENCOURT, J. et al. Enraizamento de estacas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill.) provenientes de brotações rejuvenescidas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 3, p. 277-281, 2009.
- BONA, C. M.; BIASI, L. A. Influence of leaf retention on cutting propagation of *Lavandula dentata* L. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 57, n. 4, p. 526-529, 2010.
- BORTOLINI, M. F. et al. *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn.: enraizamento, anatomia e análises bioquímicas nas quatro estações do ano. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 18, n. 2, p. 159-171, 2008.
- BRONDANI, G. E. et al. Enraizamento de miniestacas de erva-mate sob diferentes ambientes. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 57, p. 29-38, 2008.
- BRONDANI, G. E. et al. Miniestaquia de *Eucalyptus benthamii* × *Eucalyptus dunnii*: (ii) sobrevivência e enraizamento de miniestacas em função das coletas e estações do ano. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 20, n. 3, p. 453-465, 2010.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: Embrapa Florestas, 1994. 640 p.
- CUQUEL, F. L.; CARVALHO, M. L. M.; CHAMMA, H. M. C. P. Avaliação de métodos de estratificação para a quebra de dormência de sementes de erva-mate. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 5, n. 3, p. 415-421, 1994.
- DIAS, C. D. et al. Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 32, n. 72, p. 453-462, 2012.
- DIAS, J. P. T.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. IBA e carboidratos no enraizamento de brotações procedentes de estacas radiciais de *Rubus spp.* **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, nesp, p. 666-671, 2011.
- FACHINELLO, J. C. et al. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Pelotas: UFPEL, 1994. 179 p.
- FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: [s. n.], 2005. 221 p.
- FERRIANI, A. P. et al. Produção de brotações e enraizamento de miniestacas de *Piptocarpha angustifolia*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 31, n. 67, p. 257-264, 2011.
- FERRIANI, A. P.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; WENDLING, I. Miniestaquia aplicada a espécies florestais. **Revista Agro@ambiente on-line**, Boa Vista, v. 4, n. 2, p. 102-109, 2010.
- FOWLER, J. A. P.; STURION, J. A. **Aspectos da formação do fruto e da semente na germinação da erva-mate**. Colombo: Embrapa Florestas, 2000. (Comunicado Técnico Embrapa Florestas, n. 45).
- GUO, X. et al. Effect of auxin treatments, cuttings' collection date and initial characteristics on *Paeonia 'Yang Fei Chu Yu'* cutting propagation. **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 119, n. 2, p. 177-181, 2009.
- HARTMANN, H. T. et al. **Plant propagation: principles and practices**. 8th ed. New Jersey: Prentice Hall, 2011. 915 p.
- HUSEN, A.; PAL, M. Metabolic changes during adventitious root primordium development in *Tectona grandis* Linn. f. (teak) cuttings as affected by age of donor plants and auxin (IBA and NAA) treatment. **New Forests**, Dordrecht, v. 33, n. 3, p. 309-323, 2007.
- IKEUCHI, M.; SUGIMOTO, K.; IWASE, A. plant callus: mechanisms of induction and repression.

- The Plant Cell**, Rockville, v. 25, n. 9, p. 3159-3173, 2013.
- LATTUADA, D. S.; SPIER, M.; SOUZA, P. V. D. Pré tratamento com água e doses de ácido indolbutírico para estaquia herbácea de pitangueiras. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 12, p. 2073-2079, 2011.
- LIMA, D. M. et al. Capacidade de enraizamento de estacas de *Maytenus muelleri* Schwacke com a aplicação de ácido indol butírico relacionada aos aspectos anatômicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 4, p. 422-438, 2011.
- LIMA, N. S. et al. Effects of *Ilex paraguariensis* (yerba mate) treatment on leptina resistance and inflammatory parameters in obese rats primed by early weaning. **Life Sciences**, Elmsford, v. 115, p. 29-35, 2014.
- NASRI, F. et al. Study of indole butyric acid (iba) effects on cutting rooting improving some of wild genotypes of damask roses (*Rosa damascena* mill.). **Journal of Agricultural Sciences**, [s. l.], v. 60, n. 3, p. 263-275, 2015.
- NEGISHI, N. et al. Hormone level analysis on adventitious root formation in *Eucalyptus globulus*. **New Forest**, [s. l.], v. 45, p. 577-587, 2014.
- NERY, F. S. G.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. Enraizamento de *Psycotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae) nas quatro estações do ano. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 24, n. 1, p. 243-250, 2014.
- PACURAR, D. I.; PERRONE, I.; BELLINI, C. Auxin is a central player in the hormone cross-talks that control adventitious rooting. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 151, n. 1, p. 83-96, 2014.
- PEÑA, M. L. P.; ZANETTE, F.; BIASI, L. A. Época de coleta e ácido indolbutírico no enraizamento de miniestacas de pitangueira. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 5, p. 3055-3068, 2015.
- 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.
- PIZZATTO, M. et al. Influência do uso de AIB, época de coleta e tamanho de estaca na propagação vegetativa de hibisco por estaquia. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 58, n. 4, p. 487-492, 2011.
- REIS, J. M. R. et al. Efeito do estiolamento e do ácido indol butírico no enraizamento de estacas do porta-enxerto *Pyrus calleryana* Dcne. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, p. 931-938, 2000.
- SORIN, C. et al. Auxin and light control of adventitious rooting in Arabidopsis require argonaute. **The Plant Cell**, Rockville, v. 17, p. 1343-1359, 2005.
- SOUZA, A. V. V. et al. Enraizamento *in vitro* de catuaba (*Anemopaegma arvense* (Vell.) Stell. Ex de Souza), uma planta medicinal do Cerrado. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 51-58, 2015.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.
- WENDLING, I.; DUTRA, L. F.; GROSSI, F. Produção e sobrevivência de miniestacas e minicepas de erva-mate cultivadas em sistema semi-hidropônico. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 2, p. 289-292, 2007.
- WENDLING, I. et al. Seleção de matrizes e tipo de propágulo na enxertia de substituição de copa em *Ilex paraguariensis*. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 33, n. 5, p. 811-819, 2009.
- WENDLING, I.; SOUZA JUNIOR, L. Propagação vegetativa de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) por miniestaquia de material juvenil. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 3.; FEIRA DO AGRONEGÓCIO DA ERVAMATE, 1., 2003, Chapecó. **Anais...** Chapecó: Epagri, 2003. CD-ROM.
- ZHANG, W. et al. Mechanisms underlying the regulation of root formation in *Malus hupehensis* stem cuttings by using exogenous hormones. **Journal Plant Growth regulation**, [s. l.], v. 35, p. 1-12, 2016.
- ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; RODRIGUES, J. D. **Estaquia: uma abordagem dos principais aspectos fisiológicos**. Curitiba: [K. C. Zuffellato-Ribas], 2001. 39 p.