

Influência da idade das estacas e de tratamento com auxina e ferida na estacaria do medronheiro

Influence of cutting age, auxin and wounding in strawberry tree rootig

RESUMO

No início de junho de 2014, efetuou-se um ensaio de estacaria de medronheiro (*Arbutus unedo* L.) na estufa do viveiro florestal da Escola Superior Agrária de Castelo Branco (ESA/IPCB). Selecionou-se um medronheiro no Parque Botânico da ESA/IPCB, de origem seminal (com cerca de 30 anos), com bom vigor vegetativo, onde foram recolhidas 150 estacas.

Utilizaram-se, também, 150 estacas terminais provenientes de plantas jovens com um ano, provenientes de sementes de plantas de medronheiro do campus da ESA/IPCB.

Pretendeu-se comparar a capacidade de enraizamento de estacas obtidas a partir de plantas jovens com estacas retiradas de uma planta adulta, sujeitas a diferentes tratamentos: a aplicação de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) (0, 2000, 5000 e 8000 ppm) após realização de uma ferida longitudinal na base da estaca.

M.A.L. Antunes
Escola Superior Agrária.
Instituto Politécnico
de Castelo Branco.
Portugal.
aglantunes@ipcb.pt

C.C.A Ferreira
Escola Superior Agrária.
Instituto Politécnico
de Castelo Branco.
Portugal.

M.M. Ribeiro
Escola Superior Agrária.
Instituto Politécnico
de Castelo Branco.
Portugal.
Centro de Estudos
Florestais.
Instituto Superior
de Agronomia,
Universidade de Lisboa.
Portugal
mataide@ipcb.pt

ABSTRACT

In early June 2014, a strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) rooting trial was performed in the Escola Superior Agrária de Castelo Branco (ESA/IPCB) forest nursery greenhouse. An adult strawberry tree was selected at the ESA/IPCB Botanical Park of seminal origin (about 30 years-old), with good vegetative vigor, where 150 cuttings were collected. We used, also, 150 cuttings from one-year-old seedlings, from seeds collected in strawberry trees in the ESA/IPCB campus.

We aimed at comparing the rooting ability obtained from the young plants with cuttings taken from the mature plant, subject to different treatment: the application of different concentrations of indole-butyric acid (IBA) (0, 2000, 5000 and 8000 ppm) after performing a longitudinal wound in the cutting base.

The parameters analyzed were the rooting rate and the number of cuttings with *callus*, dead and alive. We counted

the number of roots (NR) and measured length of the longest root (LLR), per each rooted cutting. The data collection took place three months after planting the cuttings. In the young and adult cuttings the treatments had no significant effects on the different analyzed parameters, except in the *callus* formation parameter of adult cuttings and in the young cuttings NR and LLR. Cuttings taken from young plants yielded 80% to 90% rooting with IBA application, values not significantly different from the control (73%) and with wound treatment alone (80%). Cuttings from the mature plant yielded 10% rooting in the treatments with 2000 and 5000 ppm of IBA and only 3% when 8000 ppm IBA was applied. We observed that the wound treatment alone no cutting rooted, in this type of material. In the young cuttings, the highest values for NR and the LLR were obtained in the 8000 ppm of IBA treatment, with 13.3 and 9.6 cm roots, on average, respectively. We confirmed that this species is recalcitrant to rooting in adulthood, although it has only been tested one genotype, and in youthful stage, the application of auxin (along with a wound) increases the quality of rooting, but not the quantity.

Key words: *Arbutus unedo* L., indole-butyric acid, strawberry tree, vegetative propagation, wounding.

1. INTRODUÇÃO

O medronheiro (*Arbutus unedo* L.) é uma espécie autóctone em Portugal e que pertence à família *Ericaceae*. É uma espécie ecologicamente versátil que se desenvolve numa grande variedade de solos na região mediterrânica. Prefere solos ácidos e vegeta em solos calcários, podendo ocorrer até aos 1200 metros de altitude (Torres et al., 2002). É uma espécie pioneira que pode ser utilizada em faixas de proteção de incêndios para redução da velocidade de propagação dos fogos. Tem, por outro lado, forte capacidade de rebentação de touça após a ocorrência de incêndios florestais. Contribui, ainda, para evitar a erosão e aumentar o fundo de fertilidade dos solos, devido ao seu sistema radicular muito ramificado e à introdução de matéria orgânica pela decomposição das folhas (Takrouni et al., 2012).

O fruto é utilizado na produção de aguardente e, também, para consumo em fresco (com alto valor nutritivo e elevado teor em antioxidantes), em geleias, doces, compotas e licores. Assim, os produtores pretendem a valorização económica das explorações, recorrendo a uma espécie autóctone e existente no estado selvagem, para instalar pomares com o objetivo de converter o medronheiro numa

fruteira rentável (Gomes et al., 2014). É, também, uma espécie melífera muito interessante por ter floração durante muito tempo e numa época do ano em que poucas espécies estão em floração. Por outro lado, a madeira, fina e fácil de trabalhar, é usada no fabrico de objetos torneados, além de ser uma ótima madeira para aquecimento e produzir um excelente carvão de lenha.

Existe uma procura crescente de plantas selecionadas especialmente para produção de fruto, mas quando as árvores podem ser selecionadas pela quantidade e qualidade do fruto já atingiram o estado adulto (Gomes et al., 2014). A propagação vegetativa é importante para garantir as características genéticas das plantas selecionadas, pois as plantas de fecundação cruzada são geralmente muito heterozigóticas e as características que pretendemos manter podem ser perdidas quando se usa a propagação seminal (White et al., 2007; Hartmann et al., 2011). No medronheiro, a propagação vegetativa por estacaria tem tido limitações associadas a baixas taxas de sucesso devido ao período curto de execução (primavera e verão) e à dificuldade de enraizamento de material adulto selecionado (Metaxas, 2004; Pignatti e Crobeddu, 2005; Sulusoglu, 2012).

O enraizamento adventício é uma resposta multifatorial que leva à formação de raízes de novo na base da estaca e à formação de uma planta autónoma. Este processo tem uma fase de indução que requer uma concentração de auxina elevada (da Costa, et al., 2013). Por isso, em espécies de difícil enraizamento, o uso de uma concentração adequada de auxina exógena pode ser um fator chave para o sucesso do enraizamento e a capacidade das auxinas promoverem o enraizamento adventício de estacas é atribuído, entre outras causas, ao aumento do transporte de hidratos de carbono para a base da estaca (Hartmann et al., 2011). No medronheiro, diferentes estudos referem o benefício do uso de auxina exógena no aumento da taxa de enraizamento, mas os ensaios têm sido feitos em plantas com menos de 10 anos ou então a idade não é referida e, ainda, o efeito deste regulador no enraizamento é função do genótipo (Metaxas, 2004; Pignatti e Crobeddu, 2005; Sulusoglu, 2012).

A estacaria é um dos processos mais expeditos para se obterem cópias vegetativas, embora se devam otimizar as condições fisiológicas e ambientais de enraizamento para que a produção de plantas seja economicamente viável para os viveiristas (Hartmann et al., 2011). Com este trabalho pretendemos esclarecer alguns dos fatores que influenciam o enraizamento de estacas nesta espécie, em relação à quantidade e qualidade do enraizamento. Para isso avaliamos a influência da realização de uma ferida longitudinal

na base da estaca e da aplicação de AIB em solução no enraizamento das estacas e na quantidade e qualidade de raízes primárias formadas por estaca enraizada, em estacas retiradas de plantas jovens e adultas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal, preparação das estacas e da auxina

Este ensaio foi realizado na estufa climatizada do viveiro florestal da Escola Superior Agrária entre junho e setembro de 2014. As estacas terminais semilenhosas com 10 a 12 cm de comprimento foram retiradas de 150 plantas jovens com um ano, produzidas no viveiro e de uma planta adulta (30 anos) de origem seminal situada no Parque Botânico da ESA/IPCB (Fig. 1a e 1b). As estacas libertas de folhas nos 5 cm basais, deixando 4 folhas na parte terminal, foram imersas num fungicida, Benlate a 6%, durante cerca de 5 minutos para desinfeção. Exceto na testemunha, foi efetuado um corte longitudinal nos 2 cm basais, com um x-ato. Nas estacas onde foi aplicada auxina (AIB) os 2 cm basais foram imersos na solução com a concentração apropriada, durante um segundo

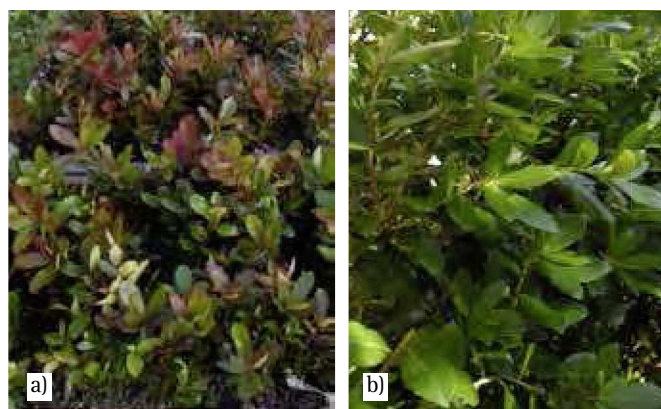


Fig. 1 - Aspeto das plantas-mãe jovens (a) e da planta-mãe adulta (b) de medronheiro usadas no ensaio.

Foram preparadas três soluções, para a realização deste ensaio, cada uma com as diferentes concentrações de AIB. Pesaram-se diferentes quantidades de AIB (Sigma I-5386) consoante a concentração necessária:

- A= solução com 2000 ppm AIB (0,2 g/100 ml)
- B = solução com 5000 ppm AIB (0,5 g/100 ml)
- C = solução com 8000 ppm AIB (0,8 g/100 ml)

Foram feitas 100 ml de cada uma das soluções A, B e C. Tinham sido previamente feitas soluções de NaOH (40,8 g/1L) e de HCl (24 ml/1L). Foi adicionada, lentamente, à quantidade de AIB pretendida para cada solução, a solução base de NaOH, até que a diluição fosse completa e perfez-se até ao volume final (100 ml) com água destilada. Por fim, ajustou-se o pH=7, por adição da solução de HCl. As soluções foram armazenadas em frascos revestidos com papel de alumínio, etiquetadas e guardadas a 4°C até à realização do ensaio.

2.2. Substrato e ambiente de enraizamento

Após a aplicação de AIB na base da estaca, estas foram etiquetadas e colocadas aleatoriamente nos tabuleiros alveolares (Fig. 2) com 40 alvéolos (5x8), contendo um substrato constituído por uma mistura de perlite e turfa (3:1 v/v). Os alvéolos têm forma cilíndrica com 4,5 cm de diâmetro e 15 cm de altura. Os tabuleiros foram colocados na bancada da estufa e previamente humedecidos.



Fig. 2 - Tabuleiro utilizado no ensaio.

A estufa possui um sistema de arrefecimento do tipo *cooling* que é ativado quando a temperatura ultrapassa os 25°C. As estacas foram sujeitas à rega por nebulização, com um intervalo de 15 minutos e uma duração de rega inicial de 3 segundos. Após os primeiros 15 dias, efetuaram-se ajustamentos na rega para a manutenção de uma humidade elevada ao nível das folhas, mas sem riscos de apodrecimento e de ataques de fungos. O sistema de *cooling* permitiu a manutenção da humidade relativa elevada, evitando o estresse hídrico das estacas e controlando a temperatura. Este aspeto é muito importante, atendendo à altura em que se iniciou este ensaio, início do verão e na região de Castelo Branco, onde as temperaturas são elevadas e a humidade relativa baixa.

2.3. Delineamento do ensaio e plantação

Foram utilizadas 300 estacas de medronheiro, 150 adultas e 150 jovens, assim designadas neste trabalho quando provenientes da planta adulta e das plantas jovens, respetivamente. O delineamento experimental foi completamente aleatório com 30 estacas por tratamento e idade (5 tratamentos x 30 estacas = 150 estacas por tipo de estaca). Na base das estacas efetuou-se uma ferida com 2 cm, utilizando o x-ato, no sentido radial, excetuando as estacas testemunha. Após a realização da ferida, aplicou-se a auxina (IBA) em solução à base das estacas, nas concentrações 2000, 5000 ou 8000 ppm. As estacas foram plantadas no dia 9 de junho de 2014, de forma aleatória nos tabuleiros.

2.4. Recolha e análise dos dados

Após três meses do início ensaio realizamos a recolha dos dados relativamente ao número de estacas enraizadas (R), com formação de *callus* (C), mortas (M) e vivas (V). Nas estacas enraizadas, foi contado o número de raízes (NR) e o comprimento da maior raiz (CMR), mas só para as raízes de comprimento \geq a 5 mm.

Como as estacas adultas, independentemente dos tratamentos, tinham enraizado muito pouco, quando comparadas com as estacas jovens, usamos o teste do Qui-Quadrado – teste de G ou de *likelihood* – em tabelas de contingência, para verificar a existência ou não de associação entre o tipo de estaca (idade) e o enraizamento. Foi formulado o seguinte teste de hipóteses: H_0 : o resultado é independente do tipo de estaca e a hipótese alternativa H_1 : o resultado depende do tipo de estaca. A hipótese H_0 é rejeitada quando a probabilidade de erro de tipo I (nível de significância) é menor que 0,05 e, nesse caso, os resultados dependem do tipo de estaca usada.

As variáveis medidas (R, C, M, V, NR e CMR) foram analisadas com base no modelo fixo de análise de variância (ANOVA), após verificação da homogeneidade de variâncias através do teste de Levene, com uma probabilidade máxima de erro do tipo I de 5% (Steel e Torrie, 1981). O modelo linear fixo considerado foi: $X_{ij} = \mu + P_i + \varepsilon_{ij}$, com o número de plantas $i=1, \dots, k$, e $j=1, \dots, r$, sendo μ a média geral, o parâmetro medido P_i , o efeito fixo, e ε_{ij} o erro experimental. Nos casos em que o teste de Levene demonstrou que as variâncias eram não homogêneas, foi efetuado o

teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e a comparação múltipla de médias foi feita aplicando o teste de Mann-Whitney U (Maroco, 2011). No caso do parâmetro CMR, após a realização da ANOVA, a comparação múltipla de médias foi feita com o teste de Tukey. Para os parâmetros R, C, M e V, expressos em percentagem (p), foi efetuada a transformação angular: $y = \arcsen \sqrt{p/100}$ (Steel e Torrie, 1981). As análises para os parâmetros CMR e NR são respeitantes só às estacas que enraizaram. Os dados foram analisados independentemente para as estacas do tipo jovem e do tipo adulto, por se ter verificado que os resultados dependiam do tipo de estaca utilizado. Todos os dados foram analisados utilizando o pacote estatístico SPSS versão 21.

3. RESULTADOS

3.1. Efeito da idade das estacas no enraizamento

Nas estacas adultas após três meses de ensaio, independentemente dos tratamentos, só 7 estacas enraizaram de entre as 150 plantadas (Tab. 1). No caso das estacas jovens, verificou-se, como era de esperar, que a quantidade de estacas enraizadas (122), também independentemente do tratamento, foi significativamente elevada, $p \leq 0.001$, através do teste de G ou *likelihood*. Como se verificou que o número de estacas enraizadas é dependente do tipo de estaca utilizado, as análises de dados foram feitas em separado para as estacas jovens e para as adultas. E, ainda, atendendo ao baixo número de estacas adultas enraizadas, as variáveis NR e CMR só foram analisadas para as estacas jovens que enraizaram.

Tab. 1 - Tabela de contingência idade da planta mãe (jovem e adulta) e formação ou não de raiz, ao fim de três meses após a plantação.

Estaca	Valores	Raiz		Total
		Não	Sim	
'Adulta'	Observados	143	7	150
	Esperados	85.5	64.5	150
'Jovem'	Observados	28	122	150
	Esperados	85.5	64.5	150
Total	Observados	171	129	300
	Esperados	171	129	300

3.2. Efeito dos tratamentos com ferida e auxina nos parâmetros R, C, M e V

Na figura 3 podemos observar os resultados obtidos ao fim de três meses, relativos aos parâmetros percentagem de enraizamento, formação de *callus*, de mortalidade e de estacas vivas. Nas estacas jovens e adultas os tratamentos não tiveram efeitos significativos nesses parâmetros, exceto na formação de *callus* em estacas adultas. No entanto, no tratamento com a concentração mais elevada de AIB registou-se a taxa mais elevada de enraizamento, de 90%, para as estacas jovens, contra 73% na testemunha. Nas estacas provenientes da planta adulta, nos tratamentos 2000 e 5000 ppm enraizaram 10% das estacas e no tratamento 8000 ppm a taxa de enraizamento foi de 3%. Neste tipo de estaca (adulta) nenhuma enraizou na testemunha e no tratamento só com ferida.

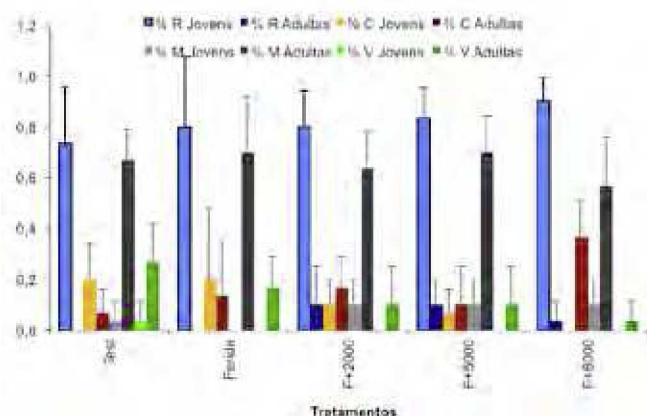


Fig. 3 - Percentagem de enraizamento (R), formação de *callus* (C), de estacas vivas (V) e mortas (M) para cada tipo de estaca (jovem e adulta), obtidos ao fim de três meses, para cada um dos tratamentos efetuados.

As estacas jovens que estão vivas mas não enraizaram, representaram 3% no tratamento testemunha e não se observou nenhuma estaca no estado só viva em todos os outros tratamentos, valores sem diferenças significativas entre si. Observou-se a percentagens mais elevada de estacas vivas adultas na testemunha, 27%, contra 3% no tratamento com 8000 ppm de AIB, valores, também, não significativamente diferentes entre si. A taxa de mortalidade mais elevada nas estacas jovens foi 10% em todos os tratamentos em que se aplicou a auxina, baixando para 3% na testemunha. Nenhuma estaca deste tipo morreu no tratamento ferida. O mesmo não aconteceu nas estacas adultas, verificando-se uma taxa de mortalidade superior a 50% em todos os tratamentos, menos acentuada nas es-

tacas em que se aplicou a maior concentração de auxina, mas os tratamentos foram não significativos entre si (Tab. 2).

Tab. 2 - Percentagem média de estacas adultas com *callus* e mortas de três meses após a plantação, para cada um dos tratamentos. Desvio padrão entre parênteses. Letras diferentes indicam que há diferenças significativas entre os tratamentos para $p \leq 0,01$ (**).

Tratamentos	Callus (%)	Mortas (%)
Testemunha	6,7 (9.1) b	67 (12) a
Ferida (F)	13,3 (21.7) ab	70 (22) a
F+2000	16,7 (11.8) ab	63 (14) a
F+5000	10,0 (14.9) b	70 (14) a
F+8000	36,7 (13.9) a	57 (19) a
Sig.	**	ns

Em relação à formação de *callus*, nas estacas jovens as percentagens mais elevadas verificaram-se na testemunha e no tratamento ferida (20%), diminuindo com o aumento das concentrações de AIB (0% para a maior concentração), embora sem diferenças significativas. Este valor nesta concentração e tipo de estaca reflete uma elevada percentagem de enraizamento (90%). Nas estacas adultas, a percentagem de formação de *callus* mais elevada verificou-se no tratamento com a maior concentração de auxina, com 37% (Tab. 2). Na testemunha (7%) e no tratamento com 5000 ppm de AIB (10%) os valores foram significativamente inferiores ao do tratamento com maior aplicação de auxina.

3.3. Efeito dos tratamentos com ferida e auxina nos parâmetros NR e CMR, nas estacas jovens

Os dois tratamentos com concentrações mais elevadas de auxina produziram os comprimentos médios da maior raiz significativamente mais elevados (10,5 cm no máximo), para as estacas provenientes de plantas jovens (Tab. 3), mas valores referentes às estacas que enraizaram. Neste tipo de estacas verificou-se que a aplicação da auxina impacta, também, positivamente no número de raízes formadas. Nos tratamentos com concentrações mais elevadas de auxina, o número médio de raízes formadas por estaca variou entre 12,1 e 13,3, valores significativamente superiores aos dos outros tratamentos (Tab. 3), cerca do quádruplo dos valores obtidos na testemunha e ferida.

Tab. 3 - Efeito da realização de ferida e da concentração de AIB (ppm) no número médio de raízes formadas por estaca enraizada (NR) e no comprimento médio da maior raiz (CMR), ao fim de 3 meses, para as estacas jovens que enraizaram. Desvio padrão entre parênteses. Letras diferentes indicam que há diferenças significativas entre os tratamentos para $p \leq 0,001$ (***)

Tratamentos	CMR (cm)	NR
Testemunha	6,3 (4,3) b	4,2 (2,9) b
Ferida (F)	5,8 (3,0) b	4,0 (1,6) b
F+2000	8,3 (4,7) ab	6,6 (4,3) b
F+5000	10,5 (4,2) a	12,1 (6,5) a
F+8000	9,6 (3,7) a	13,3 (5,2) a
Sig.	***	***

4. DISCUSSÃO

4.1. Efeito da idade das estacas

Neste ensaio verificamos que o medronheiro quando adulto é difícil de enraizar, o que coloca problemas na propagação vegetativa por estacaria de árvores selecionadas desta espécie. No entanto, só usamos um genótipo adulto, que demonstrou ser particularmente recalcitrante, com 10% de enraizamento máximo nos tratamentos com concentrações intermédias de auxina (2000 e 5000 ppm). Como já foi referido, muitos autores indicam que a capacidade de enraizamento nesta espécie é função do genótipo (Metaxas et al., 2004; Sulusoglu, 2012). Num ensaio realizado por Metaxas et al. (2004) com estacas terminais de medronheiro de oito plantas com 10 anos, os autores constataram que os tratamentos com auxina aumentaram bastante a percentagem de enraizamento, de 22 a 81% em função do genótipo, mas só usaram 8 g.L⁻¹ (8000 ppm) e controle, e verificaram não ter havido enraizamento quando não aplicaram um regulador de crescimento.

Em geral a percentagem de enraizamento diminui acentuadamente com a idade, especialmente em lenhosas, o que pode também explicar a baixa taxa de enraizamento que obtivemos nas estacas retiradas da árvore com 30 anos, enquanto os autores referidos acima usaram plantas com um terço da idade. Pignatti e Crobeddu (2005) com plantas de medronheiro com 20 anos tiveram 16.7% de enraizamento, com estacas postas a enraizar em Agosto. A capacidade de formar raízes adventícias é muitas vezes perdida durante a mudança de fase do estado juvenil para o adulto em árvores e os tratamentos com auxina exógena podem ser pouco efetivos e muito dependentes do genótipo em estacas adultas (Abu-Abied et al., 2014). Como seria

de esperar, no nosso estudo o enraizamento máximo obtido foi em estacas provenientes de plantas jovens de medronheiro com um ano e sujeitas à máxima concentração de auxina (90%), embora um resultado não significativamente diferente da testemunha (50%). Pignatti e Crobeddu (2005) referem a necessidade de rejuvenescer as plantas adultas e obtiveram resultados interessantes através de estacaria com base em estacas previamente enraizadas a partir de plantas adultas. Uma outra alternativa poderá ser o uso de plantas produzidas por micropropagação de plantas adultas, que poderão ser usadas como pés-mães para estacaria visto que existe, nesta espécie, um protocolo para cultura *in vitro* de material adulto através de rebentamento axilar (Gomes e Canhoto, 2009). O próprio processo de micropropagação pode ser considerado um processo de rejuvenescimento (Diaz-Sala, et al. 2014)

4.2. Efeito da ferida e da auxina por tipo de estaca

Os estádios iniciais do enraizamento adventício em vários órgãos incluem, necessariamente, respostas à ferida e ao estresse hídrico que podem iniciar as alterações hormonais necessárias que contribuem para reprogramar as células competentes para responder ao estímulo do enraizamento (da Costa et al., 2013). A fase de indução nas estacas é geralmente marcada pelas consequências imediatas da ferida que se efetua pela separação da estaca. Nas horas que se seguem existe um aumento de substâncias, tais como, compostos fenólicos e auxina na base da estaca, amiúde associadas com uma atividade peroxidásica transiente baixa e com o estabelecimento de um sorvedouro de hidratos de carbono nessa área (da Costa et al., 2013 e referências inclusas). A realização de uma ferida e a aplicação de auxina externa têm como objetivo aumentar esses efeitos. A realização de ferida, em particular, sobretudo em espécies de difícil enraizamento, pode conduzir a resultados favoráveis em relação à quantidade e qualidade do enraizamento, com aplicação ou não de auxina (Hartmann et al., 2011). Vários autores verificaram que a realização de ferida, especialmente em espécies difíceis de enraizar, pode induzir enraizamento em quantidade e qualidade e atuar de modo sinérgico com a auxina, através da alteração do ambiente físico e químico, que pode ser mais eficiente na diferenciação de tecidos e indução de primórdios radiculares, a auxina pode penetrar mais facilmente e o seu efeito no enraizamento pode ser aumentado (v.g., Dirr e Heuser,

1987). No ensaio que efetuámos, podemos relacionar a aplicação de auxina e de ferida com o aparecimento de um maior número de raízes e com comprimento da maior raiz mais elevado, nas estacas jovens, mas não um aumento da taxa de enraizamento, o que, neste caso, talvez seja devido ao facto de o material ser jovem. Em particular, os resultados mostram que a realização de ferida não se distingue dos tratamentos que também incluem a auxina no caso do CMR, mas não no caso do NR. Os tratamentos que além da ferida incluíram auxina conduziram a 13 raízes por estaca, no máximo. Al-Salem e Karam (2001) em *A. andrachne* L. verificaram que a realização de ferida aumentava significativamente a percentagem de enraizamento. No azereiro, Ribeiro e Antunes (1997) verificaram, que a realização de ferida e auxina aumentaram significativamente a taxa de enraizamento, assim como o número de raízes por estaca. No caso que relatamos, não foi ensaiada a influência exclusiva da auxina e, esse aspeto, deverá ter-se em conta futuramente, pois alguns autores referem que a aplicação de IBA conduz a resultados semelhantes, quer se realize ou não a ferida (Blazich e Bonamino, 1983). De fato, Blythe, (2012) verificou um aumento significativo do tamanho total da raiz, e na taxa de enraizamento em estacas tratadas com auxina (AIB, 1000 ppm), não significativamente diferente do tratamento com auxina e ferida basal. Collado et al. (2010) observaram, também, numa espécie de difícil enraizamento, o híbrido *Cupressocyparis*, que a realização de ferida juntamente com auxina não aumentava significativamente o número de estacas enraizadas, o número de raízes por estaca e o comprimento da maior raiz, por comparação com a aplicação só de auxina.

Relativamente à concentração de AIB, parece que o efeito desta auxina é função do genótipo, como já foi referido, mas valores entre 4000 e 6000 ppm de AIB dão, em geral, os melhores resultados, sobretudo nos génotipos mais recalcitrantes (Sulusoglu, 2012). Al-Salem e Karam (2001) referem que uma concentração de 24 mM AIB (0,488%) melhora a percentagem e a qualidade do enraizamento (mais raízes e raízes mais desenvolvidas) relativamente ao dobro da concentração. Nas estacas adultas a aplicação de auxina pareceu induzir poucas estacas enraizadas, com resultados não significativamente diferentes da testemunha. Neste caso, a auxina parece ser um promotor não específico e a falta da capacidade de enraizamento pode ser resultado de uma incapacidade intrínseca das células de se organizarem num meristema como resposta à auxina, possivelmente devido à supressão da expressão génica necessária para as células entrarem na via metabó-

lica necessária nos estádios iniciais da formação de raízes adventícias (Dias-Sala, 2014 e referências inclusas), efeitos muito possivelmente relacionados com o genótipo e com o estado de maturação da planta-mãe. Por outro lado, nas estacas jovens, nos tratamentos sem auxina o enraizamento iniciou-se mais tarde, tendo-se formado um maior número de estacas com *callus* e as que enraizaram têm, em geral, um sistema radicular menos expressivo, com um menor número de raízes e raízes menos compridas. Hartmann et al. (2011) sugerem que a formação de *callus* e de raízes são fenômenos independentes, no entanto a formação de *callus* pode ser benéfica a mais longo prazo, permitindo às estacas que não morrem a possibilidade de enraizar. É, também, possível que um excesso de formação de *callus* possa ser inibitório do enraizamento, no entanto este tecido pode ser fonte de células indiferenciadas capazes de se dividirem e poderem tornar-se primórdios radiculares (Haissig, 1974; Dias-Sala, 2014)

5. CONCLUSÕES

Com este ensaio verificámos que esta espécie é de difícil enraizamento no estado adulto embora só tenha sido testado um genótipo. Com estacas retiradas de plantas jovens a aplicação de auxina (juntamente com a realização de ferida) aumenta a qualidade do enraizamento mas não a quantidade, com valores entre 73 a 90%. Usámos um só genótipo que se revelou particularmente recalcitrante ao enraizamento, por isso, outros genótipos deveriam ser ensaiados, em particular, clones testados para a produção de fruto em qualidade e quantidade. Estão a decorrer ensaios clonais com base em plantas adultas selecionadas e micropropagadas (Gomes et al., 2014). A estacaria com base em clones micropropagados e testados permitiria o estabelecimento de pés-mães que poderiam ser conduzidos através da poda, como aconselham Pignatti e Crobeddu (2005) para produção de plantas melhoradas em massa a partir de estacaria, que é um método mais expedito e barato, comparado com a cultura *in vitro*.

Por outro lado, a época de realização da estacaria pode ser muito importante no enraizamento desta espécie, no entanto, a bibliografia não é conclusiva sobre a melhor época para a utilizar. Pignatti e Crobeddu (2005) indicam que não existem diferenças entre abril e agosto na percentagem de enraizamento de estacas de plantas adultas de *A. unedo* e Sulusoglu (2012) verificou que julho é melhor que novembro para alguns genótipos adultos, mas não tes-

taram outras épocas, além disso, a época mais favorável parece ser função do genótipo. Seria, por isso, muito importante realizar ensaios para aferir qual a melhor época para a realização do enraizamento.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abu-Abied, M., Szwedzarszf, D., Mordehaev, I., Yaniv, Y., Levinkron, S., Rubinstein, M., Riov, J., Ophir, R., and Sadot, E., 2014. Gene expression profiling in juvenile and mature cuttings of *Eucalyptus grandis* reveals the importance of microtubule remodeling during adventitious root formation BMC Genomics 15.
- Al-Salem, M.M., and Karam, N.S., 2001. Auxin, wounding, and propagation medium affect rooting response of stem cuttings of *Arbutus andrachne* HortScience 36, 976-978.
- Blazich F.A., and Bonamino V.P. 1983. Effects of wounding and auxin treatment on rooting stem cuttings of Fraser's Photinia Journal of Environmental Horticulture, 1:104-106.
- Blythe, E.K., 2012. Hardwood cutting propagation of confederate rose using auxin and wounding treatments Horttechnology 22, 476-478.
- Collado, L.M., Ribeiro, M.M., Antunes, M.A., 2010. Vegetative propagation of the hybrid \times *Cupressocyparis leylandii* by cuttings: effect of indole-3-butyric acid and wounding. Acta Horticulturae (ISHS) 885, 91-98.
- da Costa, C.T., de Almeida, M.R., Ruedell, C.M., Schwambach, J., Maraschin, F.S., and Fett-Neto, A.G., 2013. When stress and development go hand in hand: main hormonal controls of adventitious rooting in cuttings Frontiers in Plant Science 4.
- Diaz-Sala, C., 2014. Direct reprogramming of adult somatic cells toward adventitious root formation in forest tree species: the effect of the juvenile-adult transition Frontiers in Plant Science 5.
- Dirr, M.A., Heuser, C.W., 1987. The reference manual of woody plant propagation: from seed to tissue culture. Varsity Press, Athens.
- Gomes, F., and Canhoto, J., 2009. Micropropagation of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) from adult plants In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant 45, 72-82.
- Gomes, F., Gama, J., Figueiredo, P., Santos, e A.R., João, C., 2014. Clonagem de plantas selecionadas de medronheiro e a sua avaliação de campo, in: Associação de Aguardente de Medronho do Barlavento Algarvio (APAGARBE), Universidade do Algarve, Direção Regional de Agricultura e Pescas do Algarve, Crédito Agrícola do Algarve, Confraria do Medronho "Os Monchiqueiros", Associação dos Produtores Florestais do Barlavento Algarvio (ASPAFLOBAL), Câmara Municipal de Monchique (Eds.), I Jornadas do Medronho no Algarve, Monchique, pp. 1-8.
- Haissig B.E. 1974. Origins of adventitious roots. New Zealand Journal of Forest Science 4: 299-310.
- Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies, F. and Geneve Y.R., 2011. Hartmann e Kester's Plant propagation: principles and practices. 8th ed. Prentice-Hall, Upper Saddle River. New Jersey.
- Maroco, J., 2011. Análise estatística com o SPSS Statistics, 5ª ed. Report Number. Análise e Gestão de Informação, Lda, Pêro Pinheiro.
- Metaxas, D.J., Syros, T.D., Yupsanis, T., and Economou, A.S., 2004. Peroxidases during adventitious rooting in cuttings of *Arbutus unedo* and *Taxus baccata* as affected by plant genotype and growth regulator treatment Plant Growth Regulation 44, 257-266.
- Pignatti, G., and Crobeddu, S., 2005. Effects of rejuvenation on cutting propagation of Mediterranean shrub species Forest@ 2: 290-295.
- Ribeiro M.M., e Antunes M.A. 1997. Enraizamento de estacas de azeiteiro (*Prunus lusitânica* L. ssp. *lusitânica*) após realização de ferida e aplicação de auxina. I Congresso Florestal Hispano-Luso, 21 a 27 Junho 1997. Pamplona. 3:527-532.

- Steel, R.G. and Torrie, J.H., 1981. Principles and procedures of statistics a biometrical approach. 2th ed. Mcgraw-Hill, Singapore.
- Sulusoglu, M., 2012. Development of a rooted cutting propagation method for selected *Arbutus unedo* L. and seasonal variation in rooting capacity Journal of Agricultural Science 4, 216-225.
- Takrouni, M.M., Ali, I.B.E.H., Messaoued, C., and Boussaid, M., 2012. Genetic variability of Tunisian wild strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) populations interfered from isozyme markers Scientia Horticulturae 146, 92-98.
- Torres, J.A., Valle, F., Pinto, C., Garcia-Fuentes, A., Salazar, C., and Cano, E., 2002. *Arbutus unedo* communities in southern Iberian Peninsula mountains Plant Ecology. 160: 207-223.
- White, T.L., Adams, W.T., and Neale, D.B., 2007. Forest Genetics. CAB International, Oxfordshire, UK.

AGRADECIMENTOS

À eng^a. Graça Diogo do Laboratório de Biologia pela ajuda na preparação das soluções e ao eng. Carlos Grácio pelo acompanhamento do ensaio na estufa e à Professora Catarina Gavinhos pela ajuda na análise dos dados.



Instituto Politécnico de Coimbra
Escola Superior Agrária



MESTRADO SISTEMAS DE INFORMAÇÃO GEOGRÁFICA