



TEOR HORMONAL E BIOQUÍMICO NA MINIESTAQUIA DE CLONES DE *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. EM FUNÇÃO DA SAZONALIDADE

HORMONAL AND BIOCHEMICAL CONTENT IN MINICUTTING TECHNIQUE OF *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. CLONES IN RELATION TO THE SEASONALITY

Francielen Paola de Sá¹; Fabrício Augusto Hansel²; Cristiane Vieira Helm³; Ivar Wendling⁴; Katia Christina Zuffellato-Ribas⁵

¹ Pós-doutoranda da Embrapa – Estrada da Ribeira, Km 111, Caixa Postal 319, CEP 83411-000, Colombo/PR. francielenpaola@ufpr.br

² Analista da Embrapa, Estrada da Ribeira, Km 111, Caixa Postal 319, CEP 83411-000, Colombo/PR. fabricao.hansel@embrapa.br

³ Pesquisadora da Embrapa, Estrada da Ribeira, Km 111, Caixa Postal 319, CEP 83411-000, Colombo/PR. cristiane.helm@embrapa.br

⁴ Pesquisador da Embrapa, Estrada da Ribeira, Km 111, Caixa Postal 319, CEP 83411-000, Colombo/PR. ivar.wendling@embrapa.br

⁵ Prof^a Dra., Departamento de Botânica, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Caixa Postal 19031, CEP 81531-970, Curitiba/PR. kazu@ufpr.br. Apresentadora do trabalho.

INTRODUÇÃO

Ilex paraguariensis é uma espécie nativa da América do Sul popularmente conhecida como erva-mate. A infusão das folhas e galhos desta árvore é tradicionalmente utilizada na produção de alimentos e bebidas estimulantes (CARDOZO JUNIOR; MORAND, 2016). Devido os inúmeros compostos ativos, e.g. quercitina, rutina, ácido gálico, catequina e epigalocatequina galato (CHANDRA; DE MEJIA, 2004; LIMA et al., 2014) a espécie vem sendo utilizada para fins farmacológicos e medicinais em várias partes do mundo.

A propagação via seminal da erva-mate é dificultada devido à dormência embrionária, reduzida e desuniforme germinação e, baixa qualidade genética e fisiológica das sementes (CARVALHO, 1994; FOWLER; STURION, 2000). Uma alternativa para superação de tais dificuldades é a propagação vegetativa e, neste processo, a formação de raízes adventícias é uma das etapas cruciais no processo de produção de mudas.

O enraizamento adventício é influenciado por fatores endógenos e ambientais (PORFIRIO et al., 2016), o qual varia substancialmente entre e dentro das espécies (MAURIAT et al., 2014) e, na composição bioquímica propágulos vegetais coletados em diferentes época de coleta (DENAXA; VEMMOS; ROUSSOS, 2012).

A fim de otimizar o processo de produção de mudas, faz-se necessário compreender a base fisiológica e bioquímica do enraizamento adventício de espécies florestais, principalmente da erva-mate, que é uma cultura com ampla importância socioeconômica no sul do Brasil. Diante disso, este estudo objetivou avaliar a influência da sazonalidade além do teor bioquímico e hormonal no enraizamento adventício de dois genótipos selecionados de erva-mate.



MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados propágulos vegetativos de minicepas de dois genótipos de erva-mate, sendo um pertencente ao minijardim clonal da Embrapa Florestas (Colombo-PR) - CANARIAS (CAN) e, outro proveniente da Empresa Baldo (São Mateus do Sul-PR) - F2, ambos manejados de forma similar e, provenientes de plantas matrizes fêmeas de mais de 80 anos. Os minijardins de ambos os clones foram estabelecidos em estufa sob sistema semi-hidropônico (canaletão) com areia lavada na Embrapa Florestas.

As coletas do material vegetal ocorreram nas quatro épocas do ano (abril/2015; julho/2015; outubro/2015; janeiro/2016). As miniestacas foram confeccionadas com comprimento médio de 6 cm (± 1 cm), contendo um par de folhas reduzidas à metade, corte reto no ápice e em bisel na porção basal. O plantio das miniestacas ocorreu em tubetes de prolipropileno com capacidade de 55 cm³, utilizando como substrato comercial Tropstato Florestal®, o material foi mantido em casa de vegetação climatizada com nebulização intermitente (80% UR – umidade relativa e temperatura de 20 a 24°C) na Embrapa Florestas. Após 90 dias no ambiente de enraizamento, foram avaliadas a porcentagem de enraizamento, número de raízes/miniestaca e comprimento médio das três maiores raízes/miniestaca.

Para análise dos compostos bioquímicos foram utilizados propágulos coletados no momento da instalação dos experimentos de miniestaquia. Para quantificação de proteínas totais (PT) foi seguido o método Kjeldahl (AOAC, 1984) utilizando cerca de 48 miniestacas/tratamento. As amostras foram digeridas com ácido sulfúrico concentrado, destiladas em destilador de nitrogênio (Tecnal TE036-1) e a tituladas com ácido clorídrico (0,1M). A concentração de proteínas totais foi expressa em mg g⁻¹ massa fresca (MF).

Para análise dos açúcares totais (AT) foram confeccionadas cerca de 48 miniestacas por tratamento. Utilizou-se o método fenol-sulfúrico para quantificação, as leituras foram realizadas a 490 nm em espectrofotômetro (UV/VIS Shimadzu-1800) e comparadas com uma curva-padrão de glicose (DUBOIS et al., 1956). As concentrações foram expressas como mg g⁻¹ massa seca (MS).

Para quantificação hormonal foram utilizadas 36 miniestacas/tratamento seguindo a metodologia adaptada por Kelen et al. (2004) para extração e análise do ácido indol acético (IAA). As concentrações foram expressas como mg g⁻¹ massa seca (MS).

O delineamento foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial (4 x 2), sendo os fatores constituídos por quatro épocas do ano e dois clones de erva-mate. Nos experimentos de miniestaquia foram utilizadas quatro repetições com 20 miniestacas por unidade experimental. Para quantificação de açúcares totais e proteínas foram utilizadas três repetições de oito miniestacas por tratamento e, para análise hormonal foram utilizadas três repetições de 12 miniestacas por tratamento.

As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett. As variáveis cujas variâncias se mostraram homogêneas foram submetidas à análise de variância e as que apresentaram diferenças significativas pelo teste de F tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os clones e as estações do ano apresentaram comportamento diferenciado em todas as variáveis analisadas. De acordo com a análise de variância houve interação significativa entre as estações do ano e os clones sobre a porcentagem de enraizamento, número e comprimento médio de raízes e, a concentração de AT, PT e IAA.

O clone CAN apresentou maior enraizamento, número e comprimento de raízes em relação ao clone F2 em todas as estações do ano (Tabela 1). De forma geral, a primavera favoreceu o melhor desenvolvimento adventício, tanto em termos de porcentagem de enraizamento (média de 81,9%), quanto de número e comprimento das raízes (8 e 3,9 cm, respectivamente).

TABELA 1 - Porcentagem de enraizamento, número de raízes/miniestaca e comprimento médio das três maiores raízes/miniestaca em clones *Ilex paraguariensis* em função da época do ano.

CLONE	Enraizamento (%)				Média
	Inverno	Outono	Primavera	Verão	
CAN	78,8 aA	90,0 aA	96,3 aA	97,5 aA	90,6
F2	37,5 bB	53,8 bB	67,5 aB	77,5 aB	59,1
Média	58,1	71,9	81,9	87,5	

CLONE	Número de raízes				Média
	Inverno	Outono	Primavera	Verão	
CAN	7 bA	8 abA	10 aA	6 bA	7,9
F2	5 aA	5 aB	7 aB	5 aA	5,3
Média	6	7	8	5	

CLONE	Comprimento das três maiores raízes (cm)				Média
	Inverno	Outono	Primavera	Verão	
CAN	2,5 bA	2,6 bA	4,0 aA	2,3 bA	2,8
F2	1,5 bA	1,4 bB	3,8 aA	1,9 bA	2,1
Média	2,0	2,0	3,9	2,1	

*Médias seguidas por mesma letra minúscula para o mesmo clone entre as épocas de coleta (linha) e, médias seguidas por mesma letra maiúscula entre clones para a mesma época de coleta (coluna) não diferem estatisticamente.

As épocas mais quentes do ano (primavera e verão) proporcionaram maior enraizamento adventício (média de 84,7%) e este coincidiu com as maiores concentrações dos compostos bioquímicos (Tabela 2). As variações de temperatura e fotoperíodo recorrentes ao longo do ano influenciam os níveis endógenos de auxina, teor de carboidratos e outros componentes bioquímicos presentes nas plantas matrizes (DA COSTA et al., 2013). Este fato foi confirmado no presente estudo, tendo em vista que na primavera e verão foram observadas concentrações de açúcares totais (AT) três vezes maiores (141,3 e 111,8 mg g⁻¹ de AT, respectivamente) que aquelas coletadas no outono e inverno (31,5 e 45,8 mg g⁻¹ de AT, respectivamente) (Tabela 2).



TABELA 2 – Concentrações de açúcar e proteína total e, ácido indol acético (IAA) em clones de *Ilex paraguariensis* em função da época do ano.

CLONE	Açúcar Total (mg g ⁻¹ MS)				Média
	Inverno	Outono	Primavera	Verão	
CAN	24,0 bB	26,5 bA	121,2 aB	113,1 aA	71,2
F2	67,6 cA	36,6 dA	161,5 aA	110,5 bA	94,0
Média	45,8	31,5	141,3	111,8	

CLONE	Proteína Total (mg g ⁻¹ MF)				Média
	Inverno	Outono	Primavera	Verão	
CAN	53,2 bA	38,9 cA	74,3 aA	39,9 cA	51,6
F2	28,3 bB	28,7 bA	25,2 bB	42,6 aA	31,2
Média	40,8	33,8	49,7	41,3	

CLONE	IAA (ng g ⁻¹ MS)				Média
	Inverno	Outono	Primavera	Verão	
CAN	209,7 bA	265,7 bA	544,8 aA	543,9 aA	391,0
F2	28,9 cB	45,7 bB	188,6 aB	102,0 aB	91,3
Média	119,3	155,7	366,7	323,0	

*Médias seguidas por mesma letra minúscula para o mesmo clone entre as épocas de coleta (linha) e, médias seguidas por mesma letra maiúscula entre clones para a mesma época de coleta (coluna) não diferem estatisticamente.

Possivelmente a maior produção de açúcares nas estações mais quentes esteja relacionada ao aumento da taxa fotossintética e/ou maior disponibilização de carboidratos da fonte para o dreno. Compostos fotossintéticos são utilizados como recurso energético na indução e desenvolvimento das raízes (ASLMOSHTAGHI; REZA-SHAHSAVAR, 2010; SOUZA et al., 2015) como fonte de carbono e de energia para a biossíntese de ácidos nucleicos, proteínas e de outras substâncias essenciais à formação de raízes (LIMA et al., 2011).

As proteínas também influenciaram o enraizamento adventício das miniestacas de erva-mate. Conforme demonstrado na Tabela 2, as maiores concentrações de PT também ocorreram nas épocas mais quentes, principalmente na primavera com o clone CAN (média de 74,3 mg g⁻¹). As proteínas agem durante o enraizamento por meio da ação enzimática, atuando por exemplo, no controle endógeno de IAA (SORIN et al., 2006) (STASWICK et al., 2005).

Uma das principais razões do maior enraizamento promovido pelo clone CAN nas estações mais quentes, está associada à maior concentração endógena de IAA livre. Verificou-se que a maior indução de raízes do clone CAN na primavera e verão (81,9 e 87,5%) coincidiu com as maiores concentrações de IAA (366,7 e 323,0 ng g⁻¹, respectivamente). De forma inversamente proporcional, a insatisfatória taxa de enraizamento observada no clone F2 no inverno (58,1%) correspondeu às menores concentrações de auxina endógena (119,3 ng g⁻¹). Contudo, tal fato pode ser contornado com a aplicação de regulador vegetal, como o ácido indol butírico.

CONCLUSÕES

A sazonalidade influencia a capacidade rizogênica dos propágulos vegetativos de erva-mate, sendo que épocas quentes como primavera e verão favorecem a indução e desenvolvimento de raízes adventícias em miniestacas de erva-mate. O clone Canarias (CAN) foi considerado o genótipo de



melhor potencial rizogênico, por apresentar adequadas concentrações de IAA, proteínas e açúcares totais.

REFERÊNCIAS

- AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 40 ed. Washington, 530 p, 1984.
- CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: Embrapa Florestas, 640p, 1994.
- CARDOZO JUNIOR, E. L.; MORAND, C. Interest of mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) as a new natural functional food to preserve human cardiovascular health - A review. **Journal of Functional Foods**, Wageningen, v. 21, s.n, p. 440–454, 2016.
- CHANDRA, S.; DE MEJIA, E. G. Polyphenolic compounds, antioxidant capacity, and quinone reductase activity of an aqueous extract of *Ardisia compressa* in comparison to mate (*Ilex paraguariensis*) and green (*Camellia sinensis*) teas. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Freising, v. 52, n. 11, p. 3583–3589, 2004.
- DA COSTA, C. T.; DE ALMEIDA, M. R.; RUEDELL, C. M.; SCHWAMBACH, J.; MARASCHIN, F. D. S.; FETT-NETO, A. G. When stress and development go hand in hand: main hormonal controls of adventitious rooting in cuttings. **Frontiers in Plant Science**, Melbourne, v. 4, n. May, p. 1–19, 2013.
- DUBOIS M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. T.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Illinois, v.28, n.3, p. 350–356, 1956.
- DENAXA, N. K.; VEMMOS, S. N.; ROUSSOS, P. A. The role of endogenous carbohydrates and seasonal variation in rooting ability of cuttings of an easy and a hard to root olive cultivars (*Olea europaea* L.). **Scientia Horticulturae**, British Columbia, v. 143, s.n, p. 19–28, 2012.
- FOWLER, J. A. P.; STURION, J. A. Aspectos da formação do fruto e da semente na germinação da erva-mate. **Comunicado Técnico Embrapa**, 2000. (Comunicado Técnico, 45)
- KELEN, M.; DEMIRALAY, E. C.; ŞEN, S.; ALSANCAK, G. Ö. Separation of abscisic acid, indole-3-acetic acid, gibberellic acid in 99 R (*Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris*) and rose oil (*Rosa damascena* Mill.) by reversed phase liquid chromatography. **Turkish Journal of Chemistry**, Istanbul, v. 28, n. 5, p. 603–610, 2004.
- DA SILVA LIMA, N.; DE OLIVEIRA, E.; DA SILVA, A. P. S.; DE ALBUQUERQUE MAIA, L.; DE MOURA, E. G.; LISBOA, P. C. Effects of *Ilex paraguariensis* (yerba mate) treatment on leptin resistance and inflammatory parameters in obese rats primed by early weaning. **Life Sciences**, Columbus, v. 115, n. 1, p. 29–35, 2014.
- PORFIRIO, S.; CALADO, M. L.; NOCEDA, C.; CABRITA, M. J.; DA SILVA, M. G.; AZADI, P.; PEIXE, A. Tracking biochemical changes during adventitious root formation in olive (*Olea europaea*



L.). **Scientia Horticulturae**, British Columbia, v. 204,s.n, p. 41–53, 2016.

SORIN, C.; NEGRONI, L.; BALLIAU, T.; CORTI, H.; JACQUEMOT, M. P.; DAVANTURE, M.; SANDBERG, G.; ZIVY, M.; BELLINI, C. Proteomic Analysis of Different Mutant Genotypes of Arabidopsis Led to the Identification of 11 Proteins Correlating with Adventitious Root Development. **Plant Physiology**, Rockville, v. 140, n. 1, p. 349–364, 2006.

STASWICK, P. E.; STASWICK, P. E.; SERBAN, B.; ROWE, M.; TIRYAKI, I.; MALDONADO, M. T.; MALDONADO, M. C.; SUZA, W. Characterization of an Arabidopsis enzyme family that conjugates amino acids to indole-3-acetic acid. **The Plant cell**, Lausanne, v. 17, n. 2, p. 616–27, 2005.

LIMA, D.M.; BIASI, L.A.; ZANETTE, F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K.C.; BONA, C.; MAYER, J.L.S. 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.

MAURIAT, M.; PETTERLE, A.; BELLINI, C.; MORITZ, T. Gibberellins inhibit adventitious rooting in hybrid aspen and Arabidopsis by affecting auxin transport. **The Plant Cell**, Waterbury, v. 78, n.3, p. 372–384, 2014.