Silva Lusitana ***10****(1): 17 - 52, 2002*
© EFN, Lisboa. Portugal

Propagação Vegetativa de Sobreiros Seleccionados[1]

Maria Isabel Carrasquinho de Freitas
Investigadora Auxiliar
Estação Florestal Nacional. Departamento de Ecofisiologia e Melhoramento Florestal,
Quinta do Marquês, 2780-159 OEIRAS

Sumário: O objectivo deste trabalho consistiu em avaliar a possibilidade de propagar vegetativamente sobreiros adultos de forma a desenvolver uma metodologia a aplicar num programa de melhoramento genético. Estudou-se a enxertia homoplástica de gomo para rejuvenescimento de sobreiros seleccionados e a estacaria para a sua multiplicação massal. Na sequência da enxertia reproduziram-se, para parques de clones, 46 sobreiros. Setembro revelou-se como a época mais favorável, comparativamente a Junho/Julho. Em termos de estacaria, a temperatura do substrato e o mês de colheita revelaram-se importantes fontes de variação na multiplicação de material juvenil. O enraizamento mais elevado foi obtido em Agosto num substrato a 28°C (57,0%). A duração do enraizamento influenciou a resposta do material enxertado, sendo o período de quatro meses o mais favorável (16,4%). As estacas de plantas rejuvenescidas necessitam de concentração de IBA mais elevada (1%) que as de plantas jovens (0,5%). A diminuição do enraizamento com a idade de enxertia mostrou que a gestão de um parque de clones implica uma produção dinâmica de pés-mães.

Desta forma, a multiplicação de sobreiros adultos afigura-se viável, recorrendo à criação de parques de clones, obtidos por enxertia, como fonte de material a ser reproduzido em massa por estacaria.
Palavras-chave: *Quercus suber* L., propagação vegetativa, estacaria, enxertia de gomo, clones

Abstratct: The aim of this investigation was to evaluate the possibilities of vegetative propagation techniques of adult cork oak trees so as to develop an approach applicable to a genetic improvement breeding program. Bud grafting and cuttings were used to multiply and mass propagate selected cork oak trees. Forty-six cork oak trees were reproduced from clone banks. September proved to be a better season for grafting than June/July. Rooting season and the temperature of the rooting substrate were demonstrated to be important factors in juvenile cuttings response. The highest rooting ability was achieved in August with a rooting substrate temperature of 28°C (57.0%). The best rooting rate was obtained by maintaining cuttings in rooting media for four months. The application of IBA influenced rooting ability both in cuttings from seedlings and those from the clone bank. Nevertheless, juvenile material needed a lower IBA concentration (0.5%) than the older material (1%). The clone and age of grafting were shown to influence the rooting ability. The decrease of rooting ability with age of grafting requires a dynamic management of the clone bank.

---

[1] O presente trabalho resume parte da dissertação com o mesmo título, apresentada para obtenção do grau de Doutor em Engenharia Florestal no Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, em Abril de 2000.

E-mail: isabel.carrasquinho@efn.com.pt

The vegetative propagation of selected adult cork oak trees seems to be a viable technique, establishing a prior clone bank, by means of grafting, and then mass propagation through cuttings of this material.
Key words: *Quercus suber* L., Vegetative propagation, Cuttings, Bud grafting, Clones

Résumé: Le but de ce travail consiste dans l'évaluation de la possibilité de propager végétativement des chênes-lièges adultes de façon à développer une méthodologie à appliquer dans le cadre d'un programme d'amélioration génétique. Le greffage en écusson a été étudié pour rajeunir les chênes-lièges sélectionnés et le bouturage pour la multiplication en masse. Un nombre de 46 chênes-lièges ont été reproduits par greffage pour réaliser une banque de clones. Septembre, en comparaison à Juin/Juillet, s'est révélé être le mois le plus favorable au greffage. En termes de bouturage, la température du substrat et le mois de cueillette se sont révélés être des facteurs importants pour la multiplication du jeune matériel. L'enracinement le plus élevé a été obtenu en août dans un milieu à 28ºC (57.0%). La durée d'enracinement a été un facteur déterminant sur le matériel greffé considérant la période de 4 mois comme la plus favorable (16.4%). Les boutures issues de plantes rajeunies ont besoin d'une concentration en AIB supérieure (1%) à celles issues de plantes jeunes (0.5%). La diminution de l'enracinement en fonction de l'âge du greffage a montré que la gestion d'une banque clonale se doit d'être dynamique.

La multiplication des chênes-lièges ne semble être viable qu'en ayant recours aux banques clonales, obtenues par greffage, et en reproduisant ce matériel en masse grâce au bouturage.
Mots-clés: *Quercus suber* L., propagation végétative, bouturage, greffage en écusson, clones

Introdução

A distribuição mundial do sobreiro está concentrada na zona mediterrânica de influência atlântica, nomeadamente em Portugal, Espanha, Tunísia, Marrocos, Argélia, Itália e França. O sobreiro é a segunda espécie florestal mais importante em Portugal, ocupando actualmente 723 400 ha, o que corresponde a 21,9% da área florestal nacional e a 25,8% da superfície mundial de sobreiro (MENDES, 1997). As maiores e melhores manchas de sobreiro, no país, situam-se nas bacias terciárias do Tejo e do Sado, de Ponte de Sor a Grândola.

O quantitativo total estimado de cortiça produzida, no novénio 88/96, foi de 153 250 toneladas (MENDES, 1997). Este valor corresponde sensivelmente a cerca de 51% da produção mundial, seguindo-se a Espanha com 26% da produção. É de referir que a importância da Península Ibérica nesta matéria se deve não apenas ao quantitativo, mas também à qualidade da cortiça que produz, que é indiscutivelmente a mais apropriada para o fabrico de rolhas, sector que representa o maior peso na economia industrial suberícola (BORGES e CUNHA, 1985).

Desde o novénio 70/78 que o quantitativo de cortiça amadia e secundeira tem vindo a decrescer, não chegando o total a cobrir o consumo da indústria corticeira nacional. Tornou-se necessário, desde então, o recurso à importação de cortiças pertencentes às primeiras classes de qualidade, com o intuito de satisfazer a indústria rolheira (ANÓNIMO, 1986). No ano de 1995 atingiu-se o valor mínimo na produção total de cortiça (135 000 t) e, embora em 1996 se tenha registado um aumento no quantitativo global (165 000 t), o crescimento correspondeu a cortiças de calibres delgados. É, pois, bem clara a necessidade de aumentar a produtividade do montado de sobro, não só em termos de quantidade, como também de qualidade da cortiça. A actualização das

técnicas suberícolas, expansão da área da espécie e melhoramento genético são as três vias apontadas por VALDECANTOS (1992) para a concretização destes objectivos.

A implementação dos programas de arborização requer a obtenção de material vegetal com adequado potencial genético, como forma de garantir produtos com características superiores. Daí que vários autores tenham chamado a atenção para a necessidade de investir no melhoramento genético do sobreiro, já que a importância económica desta espécie assim o justifica (NATIVIDADE, 1939; ROLDÃO, 1986; GOMES, 1989; ALPUIM e ROLDÃO, 1993; RIBEIRO, 1994; VARELA e ERIKSSON, 1995 e ALMEIDA *et al*., 1997).

Em 1982, Albino de Carvalho iniciou um estudo de qualidade da cortiça que visava dois objectivos importantes: inventariar as potencialidades do montado de sobro, com vista à definição de grandes zonas de qualidade e identificar árvores produtoras de cortiça de qualidade superior, na perspectiva de constituírem o suporte de um programa de melhoramento. Os indivíduos seleccionados seriam posteriormente multiplicados, com recurso à propagação vegetativa, de forma a garantir as suas potenciais características qualitativas. A eleição de 230 árvores candidatas a "plus" deveu-se fundamentalmente à qualidade superior da cortiça produzida, mas também foram considerados outros parâmetros, designadamente a morfologia e a altura do tronco, o número de pernadas, o aspecto das costas da prancha, a cor do entrecasco e o fio da cortiça (CARVALHO, 1989). Com base nesta selecção de árvores 'plus' de cortiça superior, efectuada por Albino de Carvalho, ALPUIM e ROLDÃO (1993) apresentaram uma estratégia de melhoramento para o sobreiro que utiliza tanto a via seminal como a vegetativa na avaliação dos parâmetros genéticos. Os autores propõem também a aplicação das técnicas de enxertia, como uma forma de rejuvenescimento e de propagação para o viveiro das árvores adultas seleccionadas, e a estacaria, como o processo de multiplicação em massa desse material. Neste contexto, considerou-se importante avaliar a viabilidade da multiplicação de sobreiros adultos pela via vegetativa, de forma a incluir estas metodologias numa estratégia de melhoramento genético para a espécie. Neste trabalho, estudou-se a aplicação da enxertia homoplástica de gomo como técnica de rejuvenescimento de sobreiros adultos, de forma a proporcionar a produção em massa, por estacaria, de árvores seleccionadas pela qualidade da cortiça. Analisaram-se ainda, alguns factores que influenciam a formação de raízes, tanto em estacas de plantas jovens como de enxertadas, procurando determinar quais os mais determinantes do enraizamento.

Material e métodos

Material vegetal

O material vegetal utilizado neste estudo teve a seguinte origem:

A - Plantas jovens (idade inferior a dois anos) resultantes de sementeira de bolotas colhidas em árvores não identificadas.

As plantas desenvolveram-se em sacos de plástico de 35x18 cm, colocados em abrigos cobertos com uma rede de ensombramento dupla com redução da luminosidade de 75%. As plantas foram regadas diariamente e receberam adubação mensal de 2 g/planta de Nitrolusal

(20,5 N).

B - Árvores adultas, localizadas em parcelas marcadas na área de distribuição da espécie, seleccionadas pelo Engº Albino de Carvalho em função da qualidade da cortiça produzida (CARVALHO, 1991).

C - Parque de clones estabelecido, por enxertia, no decurso deste trabalho na Quinta de S. Jorge (PLANSEL, Montemor-o-Novo), a partir de árvores seleccionadas pelo Engº Albino de Carvalho.

Anualmente, desde Abril a Outubro, e durante o período em que decorreu o programa de estacaria, os pés-mães foram regados e receberam adubação quinzenal (Nutrifol, NPK 17-6-17), através de um sistema de rega gota-a-gota, numa proporção de 1,5 g/planta. Em Dezembro, os pés-mães foram podados de forma a não ultrapassarem 1 m de altura total

Metodologia aplicada

Técnica de enxertia

A reprodução vegetativa de 46 árvores adultas decorreu de 1989 até 1994, utilizando-se a técnica de enxertia homoplástica de gomo, desenvolvida no viveiro da Mata do Vimeiro, em Alcobaça (CORREIA, 1981). Segundo esta técnica, os gomos são retirados de ramos das árvores a reproduzir e enxertados em sobreiros de cerca de um ano de idade. As épocas do ano aconselhadas para a sua realização são Junho/Julho e Setembro. No ano anterior ao da enxertia é feita a sementeira das bolotas em sacos de plástico (10x30 cm), com vista à produção dos porta-enxertos.

Durante quatro anos do estudo, em duas épocas de enxertia analisadas (Junho/Julho e Setembro), o transporte dos garfos recolhidos nas árvores seleccionadas foi realizado em contentores repletos de areia de rio húmida, com o objectivo de evitar, tanto quanto possível, perdas no teor de água. Na época de crescimento do ano seguinte ao da enxertia é avaliada a percentagem de pegamentos. Nas plantas cujo gomo enxertado se encontrava entumescido foi cortada a parte aérea correspondente ao porta-enxertos, a cerca de dois centímetros do ponto de união, com o objectivo de induzir o desenvolvimento do rebento proveniente do garfo. A plantação, em parque de clones, dos enxertos bem sucedidos foi realizada na época de crescimento do ano seguinte.

Dadas as dificuldades de obtenção de ramos, nas árvores a multiplicar, de dimensões semelhantes às dos porta-enxertos, como também no próprio destacamento dos gomos, foi iniciado no ano anterior ao da enxertia um programa de limpeza nas copas, como forma de induzir a rebentação de lançamentos mais vigorosos.

Técnica de estacaria

Os ensaios de enraizamento realizados no âmbito deste trabalho decorreram em estufas existentes nos viveiros da PLANSEL, em Montemor-o-Novo. Os dois primeiros ensaios (nº1 e 2/89) foram estabelecidos numa câmara de enraizamento em alvenaria com iluminação lateral, equipada com um sistema automático de regulação de temperatura e humidade relativa do ar, bancadas aquecidas e sistema de rega tipo "mist". Os restantes ensaios (nº3 a 5/89, 1 e 2/90, 1 a 3/92, 1 a 6/93) foram instalados numa estufa de estrutura de aço galvanizado, com cobertura de policarbonato,

equipada com um sistema de arrefecimento tipo "cooling", rega por nebulização, bancada aquecida e sistema de ensombramento a 80%. Durante o período de enraizamento, as estacas foram dispostas em bancada aquecida (25°C e 28°C).

Ao fim de três meses, examinaram-se todas as estacas e avaliaram-se as percentagens de estacas com raiz (**CR**), que produziram *callus* (**CC**), sem resposta (**SR**) ou mortas (**MO**). Consideraram-se como enraizadas todas as estacas que apresentaram um ou mais primórdios radiculares com valor mínimo de cinco milímetros de comprimento.

Recolha e preparação das estacas

Nos ensaios de enraizamento utilizaram-se estacas terminais correspondentes a crescimentos do ano, semi-herbáceas, de seis a sete centímetros, identificadas por clone. A colheita deste material foi realizada de manhã, entre as 8 e as 10 horas, escolhendo-se raminhos semi-lenhosos com alguma firmeza. Posteriormente, as estacas foram mergulhadas em solução de fungicida "Benlate", numa concentração de $1gl^{-1}$, durante cinco minutos. Na zona inferior do caule, livre de folhas, e após a realização de um corte de 1 cm, foi aplicada a hormona de enraizamento, ácido indolbutírico (IBA) sob o forma de pó comercial "Rhizopon AA" ou em solução concentrada (cinco segundos) Após estes tratamentos, as estacas foram colocadas verticalmente no substrato. Durante o período de enraizamento e dadas as condições ambientais serem propícias ao desenvolvimento de fungos, procedeu-se semanalmente à pulverização com Benlate ($1gl^{-1}$).

Factores intervenientes no processo de enraizamento

Estudos realizados com material retirado de plantas jovens

Ensombramento

Em Maio de 1989, analisou-se o efeito do ensombramento das estacas no enraizamento (ensaio nº1/89). Para tal, metade da área destinada ao ensaio foi coberta com uma rede dupla de ensombramento correspondente a uma redução de luminosidade de cerca de 75%. Utilizou-se como substrato de enraizamento uma mistura de turfa e perlite na proporção de 1:1, colocado numa bancada com temperatura de fundo de 25°C. Como hormona de enraizamento aplicou-se IBA (1%) sob a forma de pó comercial. As estacas permaneceram em bancada durante um período de três meses.

Substratos de enraizamento

Em Junho de 1989 estabeleceu-se o ensaio nº2/89, onde se analisaram seis diferentes combinações de substratos: perlite, turfa, turfa e perlite (1:1) e (2:1), areia fina, turfa e leca (1:1). Este decorreu numa bancada de enraizamento com aquecimento a 25°C. Posteriormente, em Agosto instalou-se o ensaio nº4/89, no qual se analisaram as seguintes misturas de substratos: turfa, turfa e perlite (2:1) e turfa e leca (1:1). As estacas foram colocadas em bancadas sujeitas a diferentes temperaturas de fundo: 25 e 28°C. Em Outubro efectuou-se um novo ensaio (nº5/89), igualmente instalado nas condições atrás descritas. Às três

misturas testadas em Agosto foi acrescentado um quarto substrato: a perlite.

Em todos os ensaios aplicou-se na base das estacas "Rhizopon AA" numa concentração de 1%. As estacas mantiveram-se em bancada de enraizamento durante um período de três meses.

Hormona de enraizamento (IBA)

No ensaio nº3/89, realizado em Agosto, estudaram-se conjuntamente dois factores: o método de aplicação de IBA e a temperatura de substrato. Analisaram-se dois métodos de aplicação de IBA numa concentração de 1%: a)- Pó comercial "Rhizopon AA" e b)- Solução concentrada aplicada durante cinco segundos. Após a aplicação da auxina, um conjunto de estacas foi colocado no substrato de enraizamento, turfa e perlite (1:1), a uma temperatura de 25°C e um segundo conjunto a 28°C.

No ensaio nº1/90 estudou-se o efeito no enraizamento da concentração de IBA aplicado na base das estacas, colhidas em duas épocas, Abril e Novembro de 1990. Para tal, analisaram-se cinco modalidades: 0,5; 1; 2; 4 e 8% de IBA em solução concentrada. As estacas foram posteriormente colocadas em bancada aquecida a 28°C, utilizando-se como substrato uma mistura de turfa e perlite na proporção de 1:1. As estacas mantiveram-se três meses em bancada de enraizamento.

Estudos com material retirado do parque de clones

Mês de colheita das estacas

O efeito do mês de colheita das estacas no enraizamento foi analisado em 1992 e 1993 (ensaios nº1/92 e 1/93). No primeiro ano, os estudos iniciaram-se em Maio e no ano seguinte em Junho, decorrendo mensalmente até Outubro. Em todos os ensaios aplicou-se 1% de IBA sob a forma de pó comercial. As estacas, identificadas por clone, foram colocadas numa mistura de turfa e perlite na proporção de 1:1, mantendo-se em bancada aquecida a 28°C, respectivamente, três e quatro meses nos ensaios nº1/92 e 1/93.

Duração do enraizamento

Denominou-se duração do enraizamento ao tempo de permanência das estacas em bancada até à avaliação do enraizamento. De forma a estudar a resposta das estacas relativamente à duração do ensaio (ensaio nº1/92) estabeleceram-se estudos mensais, de Maio a Outubro de 1992, onde se analisaram cinco períodos de permanência diferentes: um, dois, três, quatro e cinco meses. As estacas, identificadas por clone, foram colocadas num substrato de enraizamento de turfa e perlite, na proporção de 1:1, aquecido a 28°C.

Concentração de IBA aplicado

O efeito da concentração de IBA foi analisado, durante 1992 e 1993, em três meses de colheita: Junho, Agosto e Outubro (ensaios nº2/92 e 2/93). Analisaram-se sistematicamente cinco concentrações de IBA: 0; 0,5; 1; 2 e 4%, aplicadas sob a forma de pó comercial.

Enxertia

Com o objectivo de analisar o efeito da enxertia na capacidade de enraizamento de estacas compararam-se, no ano

de 1992, as respostas de estacas retiradas de sobreiros jovens e de sobreiros enxertados. O estudo foi realizado em quatro meses de colheita de estacas: Julho, Agosto, Setembro e Outubro. Este estudo incluiu o ensaio nº1/92 e parte dos resultados do ensaio nº3/92.

No ano de 1993, comparou-se o efeito do ano de enxertia na capacidade de enraizamento. Nos ensaios realizados neste ano as estacas foram identificadas relativamente ao ano de enxertia da planta-mãe, definindo-se quatro modalidades diferentes: plantas-mães enxertadas em 1989, em 1990 e em 1991 e plantas-mães jovens (modalidade introduzida como termo comparativo), consistindo nos ensaios nº1, 3, 4, 5 e 6/93 e parte do ensaio 2/93.

Intensidade de poda

De forma a estudar o efeito no enraizamento das estacas retiradas de pés-mães sujeitos a dois níveis de intensidade de poda, seleccionaram-se dois rametos de cada um de três clones do parque clonal: 7/8A-10, 7/8A-20 e 8/6-19. Em Dezembro de 1992, aplicou-se num dos rametos de cada clone uma poda intensa, deixando apenas os ramos de primeira, segunda e terceira ordem; no outro rameto, aplicou-se um corte suave, de forma a que a planta-mãe não ultrapassasse um metro de altura. O ensaio para análise deste factor (ensaio nº5/93) foi realizado no ano seguinte (1993) em três meses de colheita de estacas: Junho, Agosto e Outubro.

Clone

O efeito do clone na capacidade de enraizamento foi estudado durante 1992 e 1993, conjuntamente com os diferentes factores analisados: mês de colheita de estacas, duração do enraizamento, concentração de IBA, efeito do ano e da técnica de enxertia e intensidade de poda aplicada aos pés-mães.

Nos ensaios que decorreram em 1992 (ensaios nº1 e 2/92), todas as estacas provenientes de material enxertado foram identificadas por clone. Já em 1993 (ensaios 1 a 5/93), para além da identificação por clone foi ainda fixada a localização de cada rameto utilizado nos vários ensaios.

No Quadro 1 encontram-se listados os clones estudados nos vários ensaios realizados.

Delineamento experimental e análise estatística dos dados

Na comparação dos sucessos da enxertia homoplástica de gomo obtidas nas duas épocas estudadas (Junho/Julho e Setembro) ao longo dos quatro anos aplicou-se uma análise de variância (ANOVA) modelo hierárquico.

No estabelecimento dos ensaios de enraizamento de estacas para comparação do efeito dos diferentes factores utilizou-se um delineamento experimental de casualização completa, com restrições. Cada ensaio comportou no mínimo três repetições constituídas por unidades experimentais de 28 estacas. Nos ensaios que decorreram durante 1989 e 1990, a unidade experimental consistiu em 40 estacas. Na análise dos resultados dos ensaios relativos aos efeitos dos vários factores estudados, que apresentavam mais de duas modalidades, aplicou-se, de um modo geral, a ANOVA, modelo de efeitos fixos, a um, dois ou três factores, consoante o caso em estudo.

Quadro 1 - Listagem de clones estudados ao longo dos ensaios realizados em 1992 e 1993 e respectivo ano de enxertia

Clones	Ano de enxertia	Ensaios em que foram usados	
		1992	1993
6/7-20	1989	1; 2; 3	-
7/8A-10	1989; 1991		1; 2; 3; 4; 5
7/8A-20	1989; 1990; 1991		
8/6-4	1989; 1991		1; 3; 4
8/6-6			1; 2; 4
8/6-y	1989; 1990; 1991		1; 2; 3; 4
8/6-19	1989		5
8/7-3	1989; 1990		1
9/6-14	1991		1; 2; 4
10/10-4	1991	-	1; 4
10/10-9		-	

Procedeu-se à transformação dos dados, de forma a garantir os pressupostos de normalidade e de igualdade de variâncias necessários para a aplicação da ANOVA. Em virtude dos valores da variável dependente, Y, serem percentagens, a transformação utilizada foi $Y' = \text{arcsen } \sqrt{Y}$, em que $0 \leq Y \leq 100$. A interpretação dos resultados foi realizada após se ter procedido à transformação inversa (PEARCE, 1978). Sempre que os resultados do teste de Fisher indicaram a rejeição da hipótese nula, procedeu-se à comparação múltipla das médias, utilizando para tal o teste da Menor Diferença Significativa a um nível de significância, α, de 0,05 ($LSD_{0,05}$) (FISHER e YATES, 1971).

A comparação dos resultados, obtidos nos dois métodos de aplicação da hormona de enraizamento, efectuou-se através do teste não paramétrico de Wilcoxon às amostras emparelhadas, devido à falta de normalidade da amostra, mesmo após transformação dos dados (SIEGEL e CASTELLAN, 1988).

O estudo das diversas variáveis de resposta (**CR**, **CC**, **SR** e **MO**) obtidas quer nas estacas retiradas de material juvenil quer de material enxertado foi obtida através de uma Análise de Componentes Principais (ACP). O objectivo consistiu em averiguar as tendências mais marcantes de resposta dos diferentes tipos de materiais vegetais analisados aos vários factores em estudo. Para tal, os resultados foram organizados por diferentes níveis de tratamento (n.t.) isto é, considerou-se cada modalidade em cada factor como sendo um nível de tratamento.

Resultados

Multiplicação vegetativa por enxertia

A percentagem de sucessos da enxertia homoplástica de gomo foi analisada ao longo de quatro anos: 1989, 1992, 1993 e 1994 em duas épocas normalmente aconselhadas para a sua realização: Junho/Julho e Setembro (CORREIA, 1981) (Figura 1).

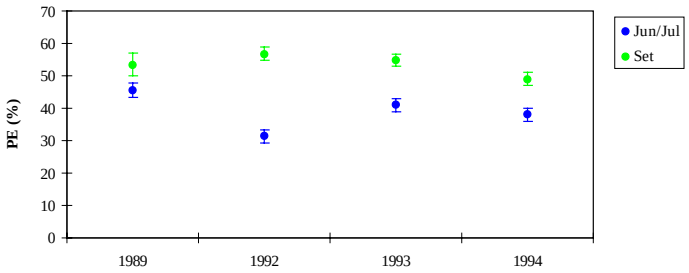


Figura 1 - Percentagens médias de pegamentos (PE) e respectivos desvios padrões obtidos nas enxertias de gomo realizadas nas duas épocas aconselhadas (Junho/Julho e Setembro) ao longo dos quatro anos estudados

Nas condições ensaiadas, não se verificaram diferenças significativas entre os diferentes anos de enxertia estudados. No entanto, relativamente ao factor época de enxertia constataram-se diferenças altamente significativas, sendo a época de Setembro mais favorável (valor médio de 53,57±1,09%) que a de Junho/Julho (valor médio de 39,57%±0,92).

Ao longo destes quatro anos propagaram-se um total de 46 sobreiros adultos seleccionados, os quais foram distribuídos pelos parques de clones de sobreiro existentes (Mata Nacional do Escaroupim, PLANSEL - Montemor-o-Novo e Monte de Fava - Ermidas do Sado).

Multiplicação vegetativa por estacaria

Ensaios com material juvenil

Ensombramento

Em Maio de 1989, estudou-se o efeito da colocação de uma rede de ensombramento durante o período de enraizamento. Os resultados indicaram uma percentagem média de apenas 5,44±1,79% para as estacas sujeitas a ensombramento enquanto que, sem ensombramento se obteve o valor médio de 16,46±2,93%.

Substratos de enraizamento

Como substratos de enraizamento estudaram-se a perlite, a turfa, a areia e a leca, durante os meses de Junho, Agosto e Outubro de 1989 (ensaios nº2/89, 4/89 e 5/89), apresentando-se os resultados médios e os respectivos desvios padrões na Figura 2. A análise estatística dos resultados destes ensaios foi realizada através de uma Anova a um factor. Para as condições em que decorreram os vários ensaios não se verificaram diferenças significativas entre as modalidades de substratos testadas. No entanto, como se observa na Figura 2, as percentagens médias de enraizamentos obtidas na bancada com aquecimento a 28°C foram sistematicamente superiores às da bancada a 25°C. Por outro lado, os valores médios de enraizamento no ensaio realizado em Agosto foram mais elevados que os de Outubro.

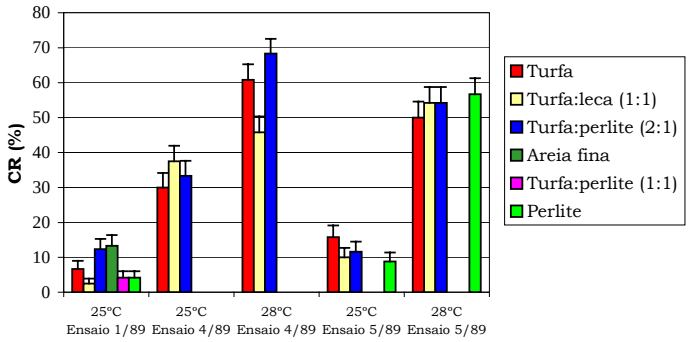


Figura 2 - Percentagens médias de enraizamento (CR) e respectivos desvios padrões para os diferentes substratos testados, obtidos nos ensaios 2/89, 4/89 e 5/89, estabelecidos em Junho, Agosto e Outubro para diferentes temperaturas do substrato

Hormona de enraizamento (IBA)

Métodos de aplicação

Analisaram-se dois métodos de aplicação de IBA na base das estacas: pó comercial "Rhizopon" e solução concentrada aplicada durante cinco segundos (ensaio nº3/89). Na análise estatística destes resultados foi usado o teste de Wilcoxon às amostras emparelhadas. Os resultados deste teste indicam não haver evidência para a rejeição da hipótese nula, H_0, isto é, para as condições em que decorreu o ensaio, os dois métodos testados de aplicação da hormona de enraizamento conduzem a resultados idênticos.

Concentrações estudadas

O efeito de diferentes concentrações de IBA (0,5; 1; 2; 4 e 8%) no enraizamento foi testado em duas épocas de colheita de estacas: Abril e Novembro de 1990, nos ensaios nº1 e 2/90. A aplicação de uma ANOVA a dois factores indicou a existência de diferenças significativas entre os diferentes tratamentos relativamente ao factor concentração de IBA, não se verificando diferenças significativas para o mês de colheita das estacas, nem para a interacção entre os dois factores.

Como se pode observar no Quadro 2, o valor mais elevado de enraizamento (19,3%) foi alcançado para uma concentração de IBA de 0,5%.

Quadro 2 - Valores médios (retransformados) obtidos relativamente às diferentes aplicações de IBA para a variável percentagem de estacas com raiz (CR). Os valores representados pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si a um nível de significância de 5% (Fisher $LSD_{0,05}$)

Concentração de IBA (%)	CR (%)
0,5	19,3 a
1	13,4 bc
2	14,2 ab
4	5,7 c
8	10,1 bc

Análise geral do comportamento das estacas

A apreciação dos resultados obtidos nos diferentes ensaios com estacas

retiradas de material juvenil permitiu constatar a existência de uma variabilidade no comportamento das mesmas relativamente aos factores estudados, nomeadamente, substratos, temperatura de enraizamento, método de aplicação da hormona e época de colheita de estacas. No sentido de procurar compreender esse comportamento, analisaram-se os resultados em termos de percentagem de estacas com raiz (CR) com *callus* (CC), sem resposta (SR), e mortas (MO), aplicando uma Análise de Componentes Principais (ACP). A Figura 3 representa graficamente no plano principal as variáveis iniciais e os diferentes níveis de tratamento. Os indivíduos que na nuvem de pontos se encontram mais à esquerda apresentam percentagens de enraizamento mais elevadas. Correspondem aos tratamentos cujas estacas foram sujeitas a uma temperatura de substrato de 28°C. Em oposição, agrupam-se os níveis de tratamento que conduzem a percentagens de formação de *callus* e de estacas mortas mais elevadas. Estas duas respostas surgem relacionadas tanto com a temperatura do substrato de 25°C, como com o mês de Outubro para colheita de estacas. O nível de tratamento correspondente ao mês de Agosto para colheita de estacas com temperatura de fundo de 25°C está associado à variável SR.

Como se pode constatar, a temperatura de substrato tem um efeito determinante para a resposta das estacas. Este efeito é demonstrado pela variação contida no primeiro eixo, denominado como o eixo de variação da temperatura do substrato. O enraizamento surge como resposta positiva das estacas a uma temperatura do substrato mais elevada (28°C) em oposição às outras possíveis respostas, formação de *callus*, sem resposta ou mesmo mortas, para uma temperatura mais baixa (25°C). O segundo eixo descreve a variação de resposta das estacas para os dois meses de colheita: Agosto e Outubro. O primeiro mês é caracterizado pela oposição entre as estacas que formam raízes e as estacas que não apresentam qualquer resposta, enquanto que, para Outubro, a formação de *callus* e o número de mortes são as respostas que se contrapõem ao enraizamento.

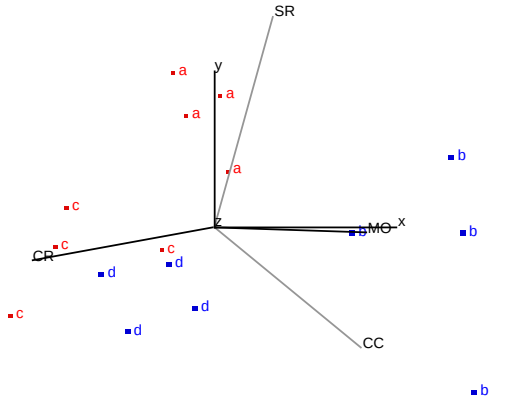


Figura 3 - Representação gráfica do plano principal dos níveis de tratamentos (mês de colheita de estacas e temperatura de substrato) e das variáveis iniciais (**CR**- % estacas com raiz; **CC**- % estacas com *callus*; **SR**- % estacas sem resposta; **MO**- % estacas mortas); a- Agosto, 25°C; b- Outubro 25°C; c- Agosto, 28°C; d- Outubro, 28°C

Ensaios com material retirado do parque de clones

Ano de 1992

Os resultados dos ensaios realizados durante 1989 e 1990 mostraram a viabilidade da multiplicação de sobreiros jovens pela via da estacaria. Dos factores estudados, a temperatura aplicada no substrato durante o processo de enraizamento e o mês de colheita das estacas manifestaram-se como as fontes mais importantes de variação na resposta das estacas. Em 1992 prosseguiram os estudos com vista a avaliar a possibilidade de multiplicação por estacaria de sobreiros pertencentes ao parque de clones previamente enxertados. Estabeleceram-se vários ensaios com o objectivo de continuar a analisar o efeito do mês de colheita na resposta das estacas e ainda estudar os efeitos da duração do enraizamento, concentração de IBA, enxertia e clone.

Em face dos resultados anteriormente obtidos (1989 e 1990) usou-se, em todos os ensaios, uma temperatura de substrato de 28°C.

Mês de colheita das estacas

Mensalmente, desde Maio a Outubro, foram estabelecidos ensaios com o objectivo de analisar o efeito do mês de colheita na resposta das estacas.

A análise dos resultados através da ANOVA a um factor mostrou a existência de diferenças altamente significativas ($p \leq 0{,}001$) para todas as variáveis transformadas **CRt**, **CCt**, **SRt** e **MOt**.

O teste de comparação de médias aplicado ao factor mês de colheita das estacas indicou Agosto como o mês que induziu a maior quantidade de estacas com raízes e com *callus*, menor mortalidade e menor percentagem de estacas sem resposta. Em contrapartida, o mês de Setembro correspondeu à época de colheita em que se obteve o número mais elevado de estacas mortas e de estacas sem resposta em oposição a uma produção de raízes e de *callus* mais baixa (Quadro 3; variáveis retransformadas).

Quadro 3 - Efeito da época de colheita das estacas nas percentagens de estacas com raiz (CR), com *callus* (CC), sem resposta (SR) e mortas (MO). Os valores (retransformados) representados pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si a um nível de significância de 5% (Fisher LSD 0,05)

Mês de colheita de estacas	CR(%)	CC(%)	SR(%)	MO(%)
Maio	9,30 **b**	17,54 **bc**	49,82 **abc**	13,59 **ab**
Junho	3,53 **d**	19,21 **bc**	56,55 **ab**	11,98 **b**
Julho	8,87 **bc**	23,05 **b**	49,56 **bc**	9,01 **b**
Agosto	18,41 **a**	26,61 **a**	43,35 **c**	3,27 **c**
Setembro	6,30 **cd**	10,65 **d**	59,32 **a**	17,69 **a**
Outubro	7,12 **bc**	14,01 **cd**	51,96 **ab**	16,52 **ab**

Duração do enraizamento

Analisou-se o efeito de cinco períodos (de um a cinco meses) de permanência em bancada de enraizamento na resposta das estacas. Os resultados da ANOVA a um factor indicam a existência de diferenças altamente significativas ($p \leq 0{,}001$) em todas as variáveis de resposta transformadas **CRt**, **CCt**, **SRt** e **MOt** relativamente à duração do enraizamento.

Relativamente à variável **CR**, constatou-se que a permanência das estacas em bancada de enraizamento por quatro meses conduziu aos valores mais elevados (16,45%) e significativamente diferentes das restantes modalidades (Quadro 4). As percentagens mais baixas de enraizamento foram obtidas nas estacas que se mantiveram durante um e cinco meses em bancada. O baixo valor alcançado ao fim de um mês de ensaio pode ser explicado pelo desigual desenvolvimento dos primórdios radiculares nas diferentes estacas. Por outro lado, a manutenção das estacas em bancada por um período superior a quatro meses parece ser prejudicial para a sua sobrevivência, verificando-se que o acréscimo de um mês aumentou o número de estacas mortas (**MO**).

Já no que respeita à variável **CC** não se verificaram diferenças significativas entre um, dois, três e quatro meses na bancada. No entanto, cinco meses após o estabelecimento do ensaio este valor torna-se significativamente inferior, possivelmente devido ao aumento da mortalidade. Estes resultados indicam ainda que, ao fim de um mês de estabelecido o ensaio, se encontra definido o número de estacas que formam *callus*.

Enxertia e mês de colheita de estacas

Compararam-se as respostas de estacas, provenientes de sobreiros jovens e de enxertados, em quatro épocas de colheita: Julho, Agosto, Setembro e Outubro. Os resultados da ANOVA a dois factores indicam, para o efeito da enxertia diferenças altamente significativas ($p \leq 0{,}001$) nas variáveis transformadas **CCt**, **SRt** e **MOt** e muito significativas ($p \leq 0{,}01$) para **CRt**. Relativamente ao mês de colheita das estacas constituem-se diferenças altamente significativas para **CRt**, **CCt** e **MOt** e apenas significativas ($p \leq 0{,}05$) para **SRt**. Em relação à interacção entre os dois factores, apenas para a variável **SRt** os resultados indicaram não existir evidência para a rejeição da hipótese de igualdade de tratamentos (H_0).

Quadro 4 - Efeito da duração do ensaio nas percentagens de estacas com raiz (CR), com *callus* (CC), sem resposta (SR) e mortas (MO). Os valores (retransformados) representados pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si para um nível de significância de 5% (Fisher $LSD_{0,05}$)

Duração do ensaio	CR(%)	CC(%)	SR(%)	MO(%)
Um mês	2,61 **c**	21,35 **a**	71,80 **a**	2,61 **c**
Dois meses	10,33 **b**	22,50 **a**	47,35 **bc**	11,93 **b**
Três meses	9,23 **b**	21,20 **a**	52,35 **b**	8,72 **b**
Quatro meses	16,45 **a**	16,20 **a**	47,50 **bc**	11,47 **b**
Cinco meses	6,48 **bc**	4,70 **b**	36,62 **c**	47,33 **a**

O teste de comparação de média de Fisher $LSD_{0,05}$ aplicado ao efeito da enxertia indicou que as estacas retiradas de plantas jovens produziram mais raízes e menos *callus*, mas também tiveram maior mortalidade (Quadro 5).

O padrão de resposta observado para o efeito da enxertia na capacidade de enraizamento é, no entanto, influenciado pelo mês de colheita de estacas. Assim, em Agosto houve uma influência positiva no enraizamento das estacas retiradas das plantas enxertadas e em Setembro observou-se uma diminuição bastante significativa na sua produção de *callus*. Provavelmente, esta diminuição está relacionada com o aumento observado na mortalidade das estacas observada neste mês (Figura 4).

Quadro 5 - Efeito da enxertia nas percentagens de estacas com raiz (CR), com *callus* (CC), sem resposta (SR) e mortas (MO). Os valores (retransformados) representados pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si para um nível de significância de 5% (Fisher $LSD_{0,05}$)

Idade da planta-mãe	CR(%)	CC(%)	SR(%)	MO(%)
Planta jovem	12,98 **a**	12,48 **b**	44,65 **b**	22,66 **b**
Planta enxertada	9,57 **b**	21,81 **a**	52,48 **a**	7,42 **a**

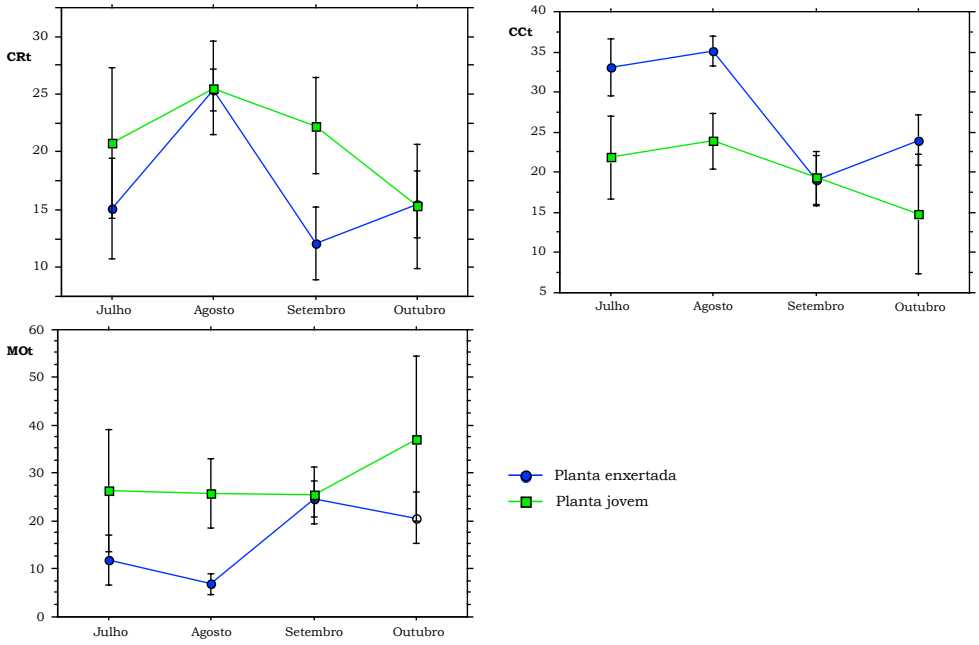


Figura 4 - Efeito da interacção dos factores mês de colheita das estacas e idade da planta-mãe nas variáveis transformadas CRt, CCt e MOt. As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%

Concentração de IBA e mês de colheita de estacas

Analisou-se o efeito, no enraizamento da aplicação de cinco concentrações de IBA: 0; 0,5; 1; 2 e 4% em três épocas de colheita de estacas: Junho, Agosto e Outubro (ensaio nº2/92). A ANOVA a dois factores aplicada aos resultados indica existirem diferenças altamente significativas ($p \leq 0{,}001$) para a concentração de IBA relativamente a CRt e SRt e para o mês de colheita das estacas em todas as variáveis estudadas. No primeiro factor, observaram-se diferenças significativas ($p \leq 0{,}05$) para CCt. A interacção dos dois factores surge altamente significativa para CCt e significativa para SRt. Não existe evidência para rejeitar a hipótese nula (H_0) no efeito da concentração de IBA sobre MOt, nem no efeito da interacção dos factores Concentração de IBA e mês de colheita das estacas sobre CRt e MOt.

O teste de comparação das médias (Fisher $LSD_{0,05}$) para a concentração de IBA aplicada nas variáveis que se apresentaram significativas (CRt, CCt e SRt) indicou que a percentagem de enraizamento mais elevada corresponde a aplicação de IBA numa concentração de 1%, embora este valor não fosse significativamente diferente dos obtidos com as aplicações de 2% e 0,5% (Quadro 6). Já no que respeita à produção de *callus* observou-se que a maior quantidade de estacas com estas formações foi obtida para uma concentração de 2%. A não aplicação de auxina na base das estacas conduziu às mais baixas percentagens de estacas enraizadas, com *callus* e mortas e simultaneamente, às mais elevadas percentagens de estacas sem resposta.

O efeito da interacção entre o mês de colheita e a concentração de IBA, relativamente à percentagem de estacas com *callus* e sem resposta, pode ser observado na Figura 5. A aplicação de IBA em concentrações superiores a 1% provocou, no mês de Outubro, um aumento da resposta das estacas, o qual se traduziu num aumento do número de estacas que produziram *callus*.

Clone

A percentagem de enraizamento para cada um dos clones foi avaliada em função do mês de colheita das estacas, da duração do ensaio e da concentração de IBA. O efeito do clone na capacidade de enraizamento é muito significativo ($p \leq 0{,}01$), como se constata no Quadro 7, que apresenta os resultados da ANOVA de Medições Repetidas.

Quadro 6 - Efeito da concentração de IBA nas percentagens de estacas com raiz (CR), com *callus* (CC), sem resposta (SR) e mortas (MO). Os valores (retransformados) representados pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si a um nível de significância de 5% (Fisher $LSD_{0,05}$)

Concentração de IBA aplicada (%)	CR (%)	CC (%)	SR (%)	MO (%)
	3,93 **c**	14,60 **c**	74,91 **a**	1,73 **b**
0,5	9,72 **a**	27,78 **ab**	53,80 **b**	4,34 **ab**
1	14,01 **ab**	24,14 **b**	43,67 **b**	8,66 **a**
2	12,66 **a**	32,02 **a**	46,55 **b**	3,12 **ab**
4	4,77 **bc**	22,00 **bc**	51,30 **b**	10,42 **a**

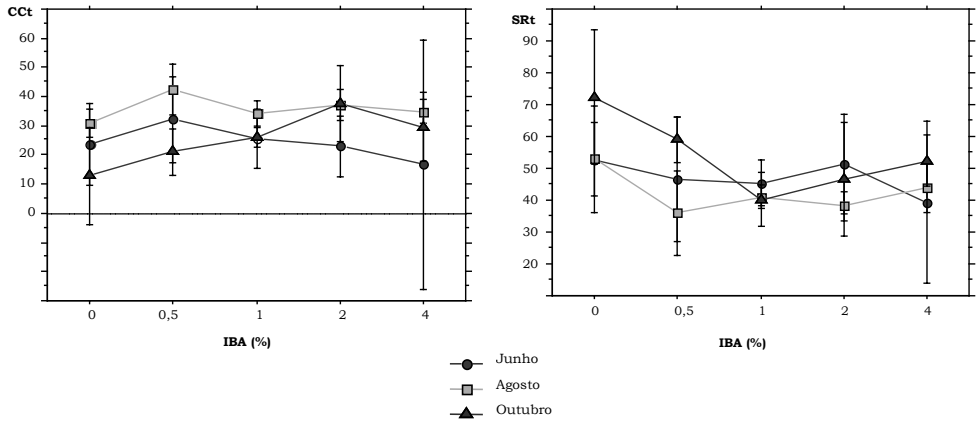


Figura 5 - Efeito da interacção da concentração de IBA com o mês de colheita das estacas para as variáveis transformadas CCt e SRt. As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%

Quadro 7 - ANOVA de Medições Repetidas para o efeito do clone na variável transformada, percentagem de estacas com raiz (CRt)

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrados médios	F calculado (1)
Entre tratamentos	18	4279,63	237,76	1,81*.
Dentro dos tratamentos	133	17515,11	131,69	
Clones	7	4634,44	662,06	6,48**
Resíduo	126	12880,68	102,23	
Total	151	21794,74		

(1) - Níveis de significância para a variável de Fisher: *- significativo (p≤0,05); **- muito significativo (p≤0,01)

Comparados os valores médios de enraizamento obtidos para cada clone, pelo método de comparações múltiplas $LSD_{0,05}$, verifica-se que os clones 8/6-4 e 7/8A-20 se destacam pela maior capacidade de enraizamento (22,00 e 21,19%). Por sua vez, os clones 8/6-6 e 7/8A-10 são os que apresentam as percentagens médias mais baixas de estacas com raízes (3,73 e 5,96%).

Análise geral do comportamento das estacas

Com vista a analisar conjuntamente a variabilidade de comportamento das estacas encontrada nos ensaios realizados no ano de 1992 recorreu-se a uma ACP. A primeira e a segunda componente explicam respectivamente 47,02 e 39,63% da variabilidade existente. As variáveis mais importantes na

construção do primeiro eixo são **CR**, **CC** e **SR**, encontrando-se as duas primeiras em oposição a **SR**. O segundo eixo traduz essencialmente a oposição entre **SR** e **MO**. Assim, o primeiro eixo representa as estacas sobreviventes, enquanto que o segundo eixo representa as estacas que não apresentaram reacção positiva ou que morreram (Figura 6). A análise da matriz das correlações entre as diferentes variáveis de resposta (Quadro 8) mostra que **CR** está directamente correlacionada ($p \leq 0,05$) com a variável **CC** e inversamente correlacionada ($p \leq 0,001$) com **SR**. A correlação inversa observada entre as variáveis **CC** e **MO** sugere que, a formação do tecido caloso contribui para a sobrevivência da estaca após o destacamento da planta-mãe.

No seguimento deste estudo aplicou-se o método de classificação hierárquico com o objectivo de estabelecer grupos de tratamentos que correspondam a respostas semelhantes (Figura 7). O corte do dendrograma, entre os níveis de fusão 14,94 e 17,90, conduziu a uma classificação dos níveis de tratamento em quatro classes.

Quadro 8 - Matriz de correlação entre as variáveis de resposta das estacas obtidas para os diferentes níveis de tratamentos

Variável	CR	CC	SR	MO
CR	1,000			
CC	0,3411 *	1,000		
SR	-0,6010 ***	-0,3409 *	1,000	
MO	-0,1450 **n. s.**	-0,5702 ***	-0,4772 ***	1,000

n=56; g=n-2=5 $P_{0,05}$=0,2227 $P_{0,01}$=0,3423 $P_{0,001}$=0,4291

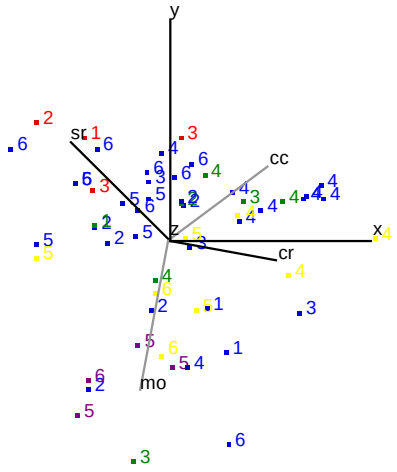


Figura 6 - Representação gráfica do plano principal dos níveis de tratamentos e das variáveis iniciais: **CR**- % de estacas com raiz; **CC**- % de estacas com *callus*; **SR**- % de estacas sem resposta e **MO**- % de estacas mortas. Época de colheita de estacas: 1- Maio; 2- Junho; 3- Julho; 4- Agosto; 5- Setembro; 6- Outubro; Duração do ensaio: Um mês; Dois meses; Três meses; Quatro meses; Cinco meses.

A classe 1 agrupa os tratamentos cujas respostas apresentam simultaneamente elevada **SR** (76,48%) e baixas **CR** (4,51%) e **MO** (3,82%). Incluem-se nesta classe todos os níveis de tratamento correspondentes aos períodos de menor permanência das estacas em bancada de enraizamento (um mês) e ainda, os meses de Setembro e Outubro com uma permanência de três meses em bancada de enraizamento. A classe 2, considerada intermédia, reúne os tratamentos que conduziram a valores para as variáveis **CR** (11,41%), **CC** (21,15%), **SR** (57,33%)e **MO** (10,10%) próximos das respectivas médias globais. A classe 3 agrega os tratamentos que contribuíram para se obter simultaneamente as maiores percentagens de enraizamento (19,29 %) e de *callus* (35,93%), mantendo reduzidas as percentagens de estacas sem resposta (38,42%) e mortas (6,38%). Incluem-se nesta classe as modalidades Julho e Agosto cujas estacas permaneceram durante três e quatro meses na bancada de enraizamento. Finalmente incluem-se na classe 4, os níveis de tratamento que apresentam os valores mais elevados para a variável **MO** (35,89%), baixos para **CC** (14,32%) e **SR** (39,67%), mantendo contudo, **CR** (10,11%) próximo dos valores médios. Assim, uma longa permanência em bancada de enraizamento (quatro e cinco meses) nos meses mais próximos do Outono parecem ser factores que contribuem para aumentar a mortalidade entre as estacas.

A análise dos dados através deste método permitiu constatar a preponderância dos factores mês de colheita das estacas e duração do ensaio para a caracterização das diferentes classes estabelecidas em função das variáveis de resposta escolhidas (**CR**, **CC**, **SR** e **MO**). Este método permitiu ainda verificar, como já atrás tinha sido referido, não existir correlação significativa ($p>0,05$) entre as variáveis **CR** e **MO**. Valores baixos para a variável **MO** tanto aparecem associados a enraizamentos elevados (classe 3) como a baixos (classe 1).

ANO DE 1993

Os ensaios realizados durante o ano de 1992 permitiram retirar mais informações relativamente ao processo de formação de raízes em estacas. Confirmou-se a importância da época de colheita das estacas para o seu enraizamento. A identificação dos clones no material vegetal utilizado nos ensaios permitiu constatar que o clone pode contribuir fortemente para explicar a variabilidade na resposta ao enraizamento. Verificou-se ainda que o período de permanência das estacas na bancada de enraizamento tem também um efeito marcante no processo de formação de raízes.

Estes resultados contribuíram para a reformulação dos ensaios realizados em 1993. Continuou-se a averiguar o factor mês de colheita de estacas como determinante do processo de enraizamento. Analisaram-se também as respostas das estacas aos factores: ano de enxertia das plantas-mães, clone, intensidade de poda aplicada nos rametos e concentração de IBA.

Em face dos resultados do ano anterior, decidiu-se considerar o período de quatro meses como a duração do ensaio em bancada de enraizamento.

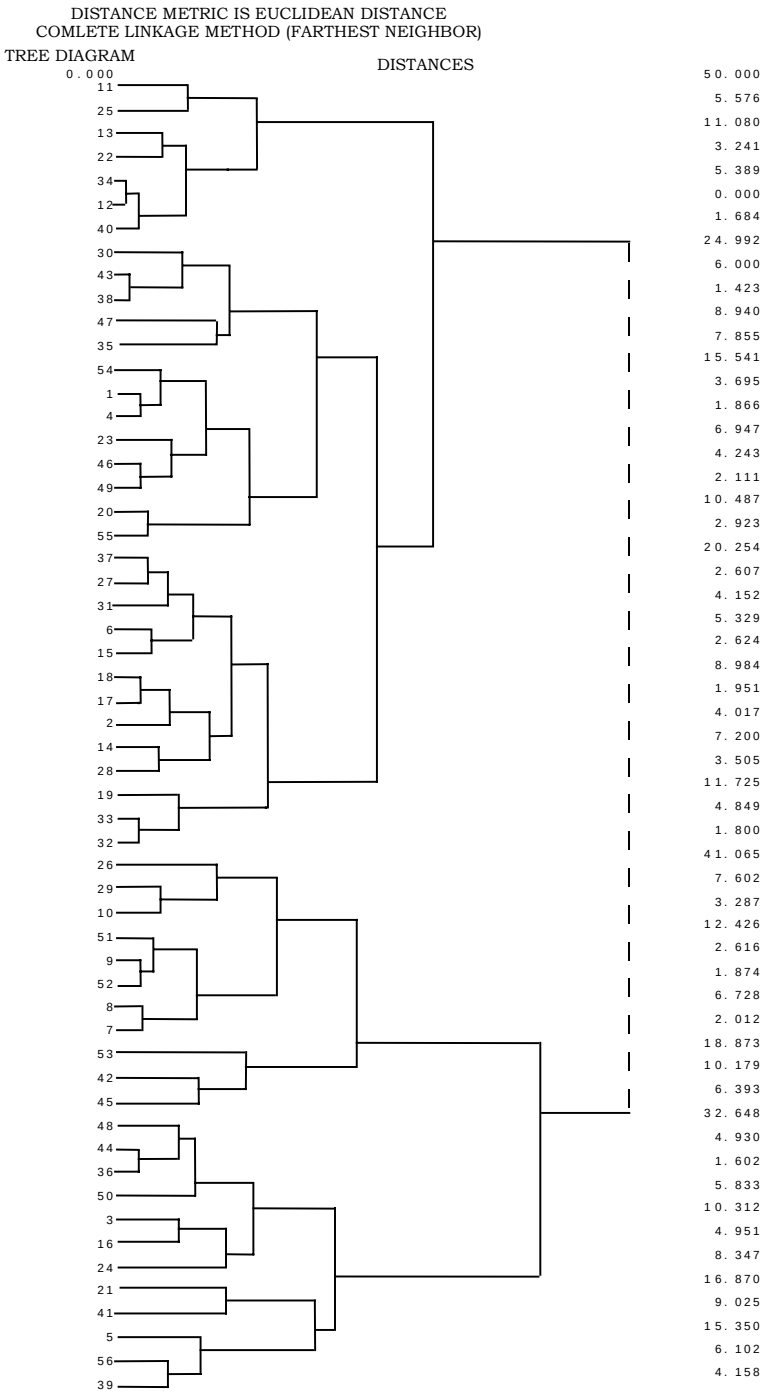


Figura 7 - Dendrograma dos 56 níveis de tratamentos analisados pelo método de classificação hierárquica utilizando as distâncias euclidianas e do "vizinho mais próximo"

Ano de enxertia dos rametos

Compararam-se as respostas das estacas retiradas de rametos de diferentes anos de enxertia: 1989, 1990 e 1991 através de uma ANOVA a um factor às variáveis **CRt**, **CCt**, **SRt** e **MOt**. Como modalidade comparativa utilizaram-se estacas de plantas jovens. Os resultados desta análise indicaram a existência de diferenças altamente significativas entre as diferentes modalidades para as variáveis **CRt** e **MOt**. Relativamente às variáveis **CCt** e **SRt** não existe evidência para a rejeição da hipótese nula (H_0). Assim, nas condições testadas, o ano de enxertia do rameto influenciou apenas a capacidade de enraizamento e a mortalidade das estacas.

A aplicação do teste de significância de Fisher $LSD_{0,05}$ às variáveis **CRt** e **MOt** permitiu observar a oposição entre as modalidades ano de enxertia de 1989 e de 1991. Para as estacas retiradas de rametos enxertados em 1989 obtiveram-se simultaneamente os enraizamentos mais baixos (4,42%) e a mortalidade mais elevada (20,36%), ao contrário do atingido para o material retirado dos rametos enxertados em 1991. Os resultados indicam uma progressiva diminuição da capacidade de enraizamento das estacas retiradas de rametos, com o aumento da idade de enxertia. Esta diminuição é acompanhada de um acréscimo na mortalidade das estacas. Os resultados alcançados para os rametos enxertados em 1991 não se apresentaram significativamente diferentes dos obtidos para as plantas jovens.

Mês de colheita de estacas e clone

Analisou-se o efeito do factor mês de colheita ao longo dos cinco meses: de Junho a Outubro, em oito clones: 7/8A--10, 7/8A-20, 8/6-4, 8/6-6, 8/6-y, 8/7-3, 9/6-14 e 10/10-4, através de uma ANOVA a dois factores. Para o mês de colheita de estacas, os resultados indicam a existência de diferenças altamente significativas para as quatro variáveis. Os valores médios mais elevados de **CR** e **CC** foram obtidos em Julho (18,04 e 68,70%), tendo este mês apresentado baixa mortalidade (0,10%). Agosto e Setembro diferenciaram-se essencialmente pela quantidade de estacas que produziram *callus* (20,67 e 54,08%), já que em termos de formação de raízes apresentaram percentagens equivalentes (12,90 e 12,89%). Em Outubro, comparativamente aos outros meses estudados, observaram-se valores bastante baixos de **CR** e **CC** (7,74 e 34,08%) e valores mais elevados de **SR** e **MO** (33,53 e 13,58%). Pode assim constatar-se que este mês de colheita de estacas não se mostrou adequado à reprodução vegetativa dos clones.

Também para o clone se obtiveram diferenças altamente significativas ($p \leq 0,001$) para as duas variáveis **CRt** e **SRt** e significativas ($p \leq 0,05$) para **CCt**. Não existe evidência para considerar que este factor condiciona a variável **MOt**. A aplicação do teste de Fisher $LSD_{0,05}$ permitiu a separação em dois conjuntos, consoante a resposta de enraizamento (Quadro 9). De um modo geral, observou-se que os clones com maiores enraizamentos apresentaram também elevada produção de *callus* e mortalidade baixa. Os clones 8/6-y e 7/8A-10 distinguem-se dos restantes por apresentarem os valores mais baixos de **CR**. Por sua vez, o clone 8/6-6 alcançou a capacidade média de enraizamento mais elevada do conjunto dos clones estudados. Este caracterizou-se também

por alcançar uma elevada percentagem de estacas com *callus* (40,73%) e baixa percentagem de estacas sem resposta (18,74%). É de salientar que, no ano anterior, este clone foi o que apresentou a capacidade de enraizamento mais baixa (3,73%). O material vegetativo utilizado nos ensaios realizados em 1992 e 1993 correspondeu, de facto, a fases diferentes do parque de clones. Como atrás se referiu, o ano de enxertia da planta-mãe parece influenciar a resposta de enraizamento das estacas.

Relativamente à interacção do mês de colheita com o clone não existe evidência para rejeitar a hipótese nula.

Intensidade de poda, mês de colheita de estacas e clone

Em Dezembro de 1992 seleccionaram-se três clones (7/8A-10, 7/8A-20 e 8/6-19) e aplicaram-se, nos respectivos rametos, dois níveis de intensidade de poda: uma severa e uma suave. O ensaio comparativo para testar este factor na resposta das estacas foi realizado, no ano seguinte, em três meses de colheita: Junho, Agosto e Outubro. Na análise estatística dos resultados foi aplicada uma ANOVA a três factores às variáveis **CRt**, **CCt**, **SRt** e **MOt**.

Relativamente ao factor Clone, os resultados do teste de Fisher $LSD_{0,05}$, para comparação da médias mostrou que o 7/8A-10 apresentou a menor percentagem de estacas com *callus* (19,57%) e simultaneamente a mortalidade mais elevada (31,35%); enquanto que o clone 7/8A-20 teve um comportamento inverso (38,16 e 11,96%).

A interacção da intensidade de poda com o mês de colheita mostrou a existência de diferenças altamente significativas para a variável **CCt** e não significativas para **CRt, SRt** e **MOt**. A Figura 8 permite a comparação dos valores médios obtidos para os dois níveis de intensidade de poda nos meses de Junho, Agosto e Outubro, relativamente à variável transformada **CCt**. Analisada a produção de estacas com *callus* em relação aos rametos sujeitos a poda suave e aos sujeitos a poda intensa verificou-se que no mês de Junho a primeira modalidade quase duplicou a segunda (de 60,00% para 34,35%). Para os dois meses seguintes, o efeito atenua-se, embora em Outubro os resultados apontem para uma inversão dos efeitos.

No que respeita à interacção da intensidade de poda com o clone, as variáveis **CRt** e **MOt** apresentaram-se altamente significativas. Para as variáveis **CCt** e **SRt** não existe evidência para rejeitar a hipótese nula. A observação da Figura 9 indica que a poda intensa dos rametos favoreceu o clone 7/8A-10. Este efeito verificou-se não só através de um aumento da percentagem de estacas com raiz, como também pela diminuição do número de estacas mortas. No entanto, os clones 7/8A-20 e 8/6-19 não apresentaram o mesmo comportamento. Há uma tendência para que o enraizamento destes dois clones seja superior nos rametos sujeitos a uma poda suave.

Já no que se refere à interacção do mês de colheita com o clone surgiram diferenças muito significativas para a variável **MOt** e significativas para **CRt** e **CCt**. Os clones estudados apresentaram comportamentos diferentes, consoante os três meses de colheita conforme se observa na Figura 10. Assim, em termos de enraizamento, o clone 7/8A-10, ao contrário dos clones 7/8A-20 e 8/6-19, reagiu favoravelmente no mês de Outubro. Por sua vez, no mês de Junho,

o clone 8/6-19 apresentou, relativamente aos outros dois, mortalidade baixa e uma elevada quantidade de estacas com *callus*.

Quadro 9 - Efeito do clone nas percentagens de estacas com raiz (CR); com *callus* (CC) e sem resposta (SR). Os valores (retransformados) representados pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si a um nível de significância de 5% (Fisher LSD0,05)

Clones	CR (%)	CC(%)	SR(%)	MO(%)
7/8A-10	6,18 **b**	30,53 **ab**	33,08 **b**	20,27
7/8A-20	10,11 **a**	39,28 **a**	30,32 **b**	10,08
8/6-4	10,17 **a**	63,53 **a**	10,33 **d**	5,42
8/6-6	27,52 **a**	40,73 **a**	18,74 **cd**	4,63
8/6-y	4,85 **b**	36,52 **ab**	31,45 **b**	16,91
8/7-3	18,76 **a**	35,78 **ab**	23,92 **bcd**	11,17
9/6-14	10,88 **a**	28,82 **b**	44,10 **a**	6,86
10/10-4	16,05 **a**	33,70 **ab**	25,43 **bc**	11,38

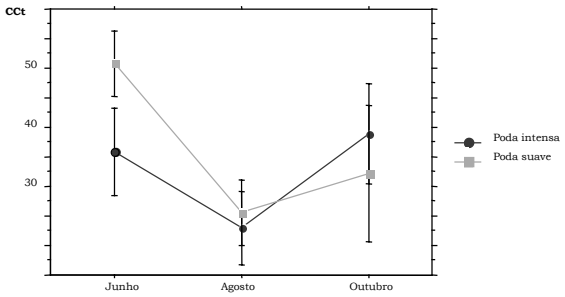


Figura 8 - Efeito da interacção da intensidade de poda com o mês de colheita de estacas na variável transformada CCt. As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%

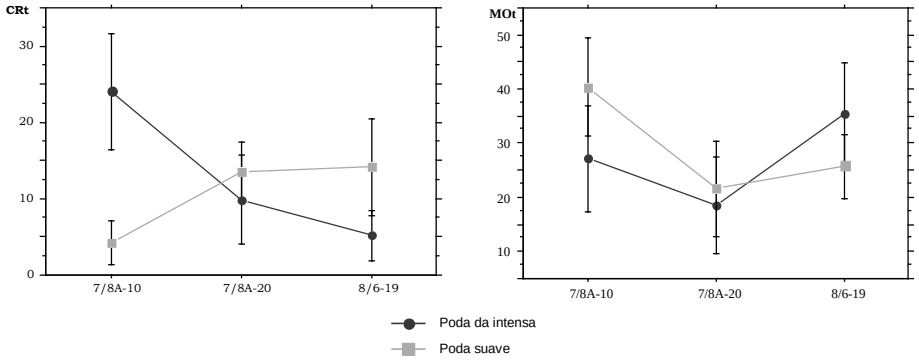


Figura 9 - Efeito da interacção da intensidade de poda com o clone nas variáveis transformadas CRt e MOt. As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%

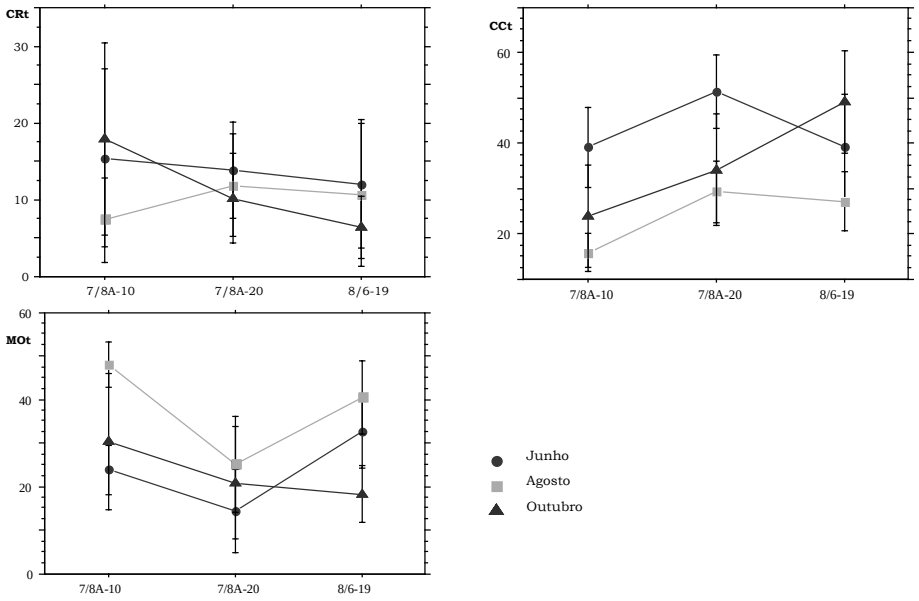


Figura 10 - Efeito da interacção do mês de colheita de estacas com o clone nas variáveis transformadas CRt, CCt, SRt e MOt. As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%

Concentração de IBA aplicada, mês de colheita de estacas e clone

O efeito da aplicação de diferentes concentrações de IBA foi analisado em cinco clones: 7/8A-10, 7/8A-20, 8/6-6, 8/6-y e 9/6-14 e repetido em três meses de colheita: Junho, Agosto e Outubro. Os resultados da ANOVA a três factores para a concentração de IBA, o mês de colheita das estacas e o clone indicam diferenças altamente significativas para as variáveis **CCt** e **SRt** e não significativas para **CRt** e **MOt**. A comparação dos valores médios obtidos (Quadro 10), através do teste de Fisher $LSD_{0,05}$, mostrou que a maior produção de estacas com *callus* foi obtida com a aplicação de 2% de IBA. Esta concentração conduziu também ao valor mais baixo de estacas sem resposta. Os valores de **CC** mais reduzidos e de **SR** mais elevados corresponderam à aplicação de IBA nas concentrações de 0, 0,5 e 1%. Para ambas as variáveis, estas três concentrações não deram respostas significativamente diferentes.

Quadro 10 - Efeito da aplicação de IBA na base das estacas nas percentagens de estacas com *callus* (CC) e sem resposta (SR). Os valores (retransformados) representados pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si a um nível de significância de 5% (Fisher $LSD_{0,05}$)

IBA (%)	CC (%)	SR (%)
0	18,33 **c**	41,72 **ab**
0,5	23,26 **bc**	34,72 **ab**
1	19,73 **c**	43,28 **a**
2	44,47 **a**	22,01 **c**
4	30,83 **b**	31,33 **bc**

No que respeita ao mês de colheita de estacas e ao clone observaram-se

diferenças altamente significativas para as variáveis **CCt**, **SRt** e **MOt** e muito significativas para **CRt**.

A análise de comparação de médias mostrou que os clones 7/8A-20 e 8/6-6 apresentaram, comparativamente, a maior quantidade de estacas com raiz (13,50% e 19,41%) e no que respeita à mortalidade (8,32% e 6,35%) e quantidade de estacas sem respostas (20,97% e 23,10%) as mais baixas. Os restantes clones, embora semelhantes em termos de enraizamentos, mostraram comportamentos diferentes para as outras variáveis. O clone 9/6-14 distinguiu-se pela percentagem de estacas sem resposta (59,22%) enquanto o 8/6-y pela mortalidade elevada (19,73%).

Relativamente à interacção da concentração de IBA com o mês de colheita de estacas, os resultados obtidos para as variáveis **CRt** e **MOt** não permitiram a rejeição da hipótese nula. Verificou-se a existência de diferenças altamente significativas para a variável **SRt** e significativas para **CCt**. Em ambas as variáveis, observou-se que a concentração de 4% de IBA se sobrepôs ao efeito do mês de colheita das estacas. Nos meses de Junho e Outubro, para concentrações de IBA mais baixas (0% ou 0,5%) verificou-se uma alteração no padrão de resposta das estacas (Figura 11).

O efeito da interacção do mês de colheita com o clone apresentou-se significativo para a variável **CCt** e altamente significativo para **MOt**. A Figura 12 evidencia as alterações na resposta das estacas, em termos de produção de *callus* e de mortalidade, que os meses de colheita exerceram conjuntamente com os clones.

Em relação às interacções concentração de IBA com o clone e concentração de IBA com o mês de colheita com o clone, os resultados obtidos nos ensaios, para as quatro variáveis, não permitiram detectar diferenças significativas.

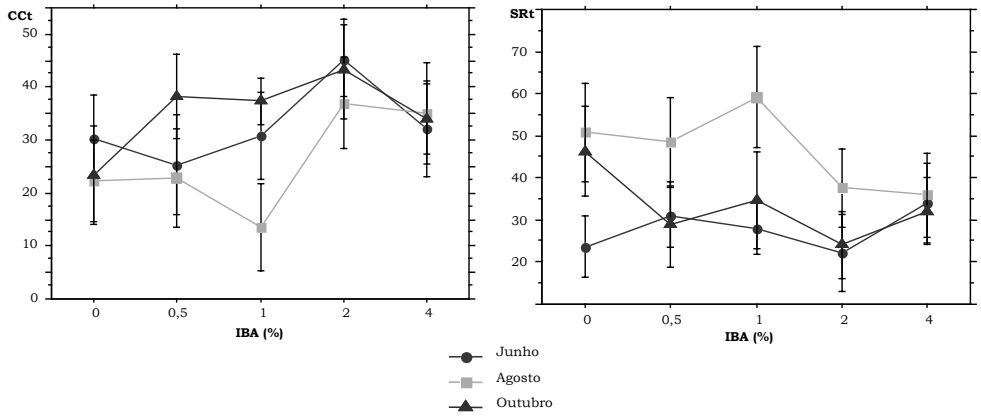


Figura 11 - Efeito da interacção da concentração de IBA com o mês de colheita nas variáveis transformadas CCt e SRt. As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%

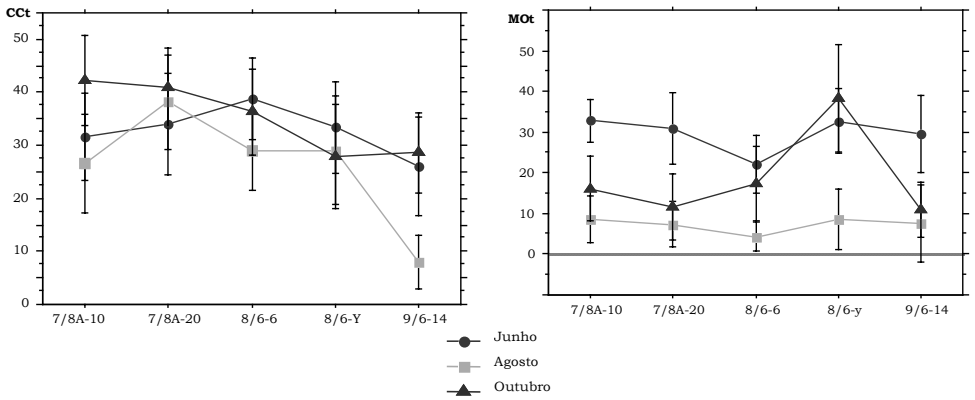


Figura 12 - Efeito da interacção do mês de colheita com o clone nas variáveis transformadas CCt e MOt. As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%

Análise geral do comportamento dos clones

A importância do clone na resposta das estacas tornou-se evidente ao longo das análises dos vários factores: mês de colheita, intensidade de poda e concentração de IBA. Tomando como base os ensaios realizados no ano de 1993, estudou-se a resposta média dos clones, por forma a determinar quais dos efeitos analisados os que se mostraram mais relevantes. Assim, a variabilidade observada nos dez clones foi alvo de estudo através de uma ACP. Os dois eixos principais explicam 77,50% da variabilidade total existente. O primeiro eixo traduz essencialmente a oposição entre as variáveis iniciais **CR** e **CC** com **SR** distinguindo, deste modo, os clones cujas estacas reagiram positivamente (formação de raízes ou *callus*) dos que não apresentaram qualquer resposta. No segundo eixo, **CR** opõe-se a **CC** correspondendo a uma separação dos clones em termos de produção de raízes e de *callus* (Figura 13).

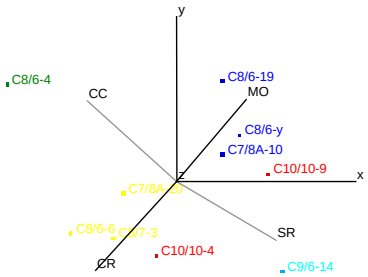


Figura 13 - Representação gráfica do plano principal dos diferentes clones e das variáveis iniciais

Com vista ao estabelecimento de grupos de clones que apresentem respostas semelhantes aplicou-se o método de classificação hierárquico. O corte do dendrograma entre os níveis de fusão de 8,81 e 13,91 conduziu a uma separação dos clones em cinco grupos (Figura 14). O grupo 1 e 5 compõem-se apenas por um elemento cada (clones 8/6-4 e 9/7-14, respectivamente). Os clones 8/6-4 e 9/6-14 surgem distintos e distantes entre si. Embora apresentem valores semelhantes para as variáveis **CR** e **MO**, reagiram de forma inversa relativamente a **CC** e **SR**. No conjunto

total dos clones estudados, o 8/6-4 apresentou a produção de estacas com *callus* mais elevada e de estacas sem resposta mais baixa. A resposta deste clone ao mês de colheita de estacas e ao ano de enxertia mostrou que os valores de **CC** mais elevados foram atingidos nas estacas colhidas em Julho e Setembro e retirados de rametos com mais tempo de enxertia. Embora este clone se caracterize por apresentar baixa mortalidade, Agosto correspondeu ao mês em que se atingiu a maior percentagem de estacas mortas.

A característica mais importante do clone 9/6-14 (grupo 5) correspondeu à elevada percentagem de estacas que não mostraram resposta. Os valores mais baixos para esta variável foram obtidos apenas nas modalidades Julho e Setembro com aplicação de 1% de IBA. Estas correspondem também às modalidades em que se obteve uma produção de *callus* mais elevada.

O grupo constituído pelos dois clones 10/10-4 e 10/10-9 (grupo 2) distinguem-se por apresentar simultaneamente, capacidade de enraizamento e mortalidade elevadas. Estes dois clones apenas foram estudados sob o efeito do mês de colheita de estacas. Ambos os clones apresentaram uma oposição entre a produção de raízes e a de *callus*. Os valores mais elevados para **CR** foram obtidos em Julho e Agosto, enquanto a maior percentagem de estacas com *callus* correspondeu ao mês de Setembro.

O grupo 3 junta os clones que apresentaram enraizamentos baixos, percentagens de estacas com *callus* e sem resposta médias e mortalidade média a alta. Fazem parte desta classe os clones 7/8A-10, 8/6-19 e 8/6-y. A análise individual realizada para cada um destes clones mostrou que, de um modo geral, os factores estudados não contribuíram para alterar o seu comportamento. Apenas a poda intensa, aplicada no clone 7/8A-10, induziu um aumento da capacidade de enraizamento. Este resultado parece indicar que a baixa capacidade de enraizamento é uma característica intrínseca a cada um destes clones.

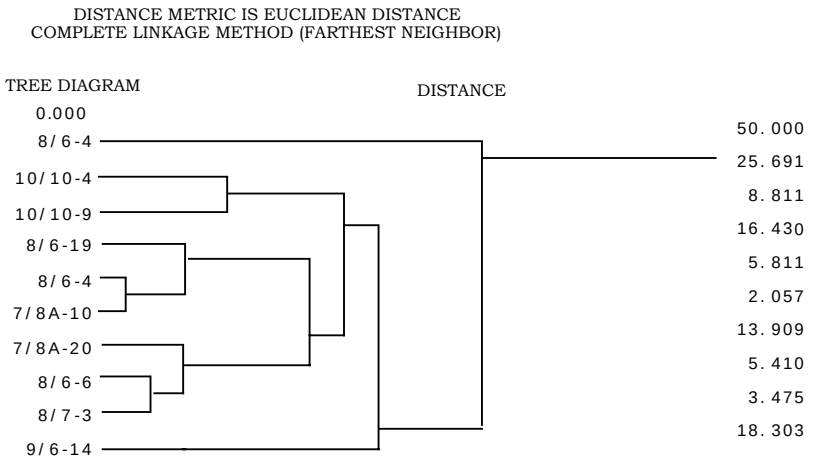


Figura 14 - Dendrograma dos 10 clones analisados pelo método de classificação hierárquica utilizando as distâncias euclidianas e do "vizinho mais próximo".

Os clones 7/8A-20, 8/6-6 e 8/7-3 (grupo 4) caracterizaram-se por apresentar uma elevada percentagem de estacas com raiz e, ao mesmo tempo, uma mortalidade reduzida. De um modo geral, verificou-se que, em termos de capacidade de enraizamento, estes clones reagiram bem, nas modalidades de tratamentos estudadas excepto, com a aplicação de 4% de IBA em Outubro. Destacaram-se também, os efeitos negativos que a poda excessiva exerceu no clone 7/8A-20.

Discussão

Tecido caloso e formação de raízes

Para estacas retiradas de plantas jovens parece que as condições que favorecem a iniciação e desenvolvimento de raízes contrariam a formação de tecido caloso e baixam a mortalidade. Já para as estacas colhidas de sobreiros enxertados, a correlação positiva entre a formação de raízes e a de *callus* sugere o oposto. Como ZOBEL (1992) refere, a formação de *callus* não garante o sucesso do enraizamento. Embora MACKENZIE *et al*. (1986, citado em RIBEIRO, 1994) considerem que o aparecimento de *callus* parece ser um requisito para a formação de raízes, tal não se constatou para o sobreiro, relativamente ao material proveniente de enxertia. Para SAN-JOSÉ *et al*. (1992, citado em RIBEIRO, 1994) em culturas *in vitro,* de *Quercus robur*, os primórdios radiculares formam-se geralmente a nível do anel de fibras perivasculares, aproveitando as descontinuidades. Por outro lado, RIBEIRO (1994), num estudo anatómico e histológico efectuado com sobreiros de sete meses de idade sujeitos a um pré-tratamento de escurecimento, verificou que o tecido caloso se formou a nível da periderme, constatando também alterações progressivas na continuidade do anel de fibras perivasculares sem ter, contudo, detectado enraizamento.

Alguns autores consideram que a formação de *callus* pode estar relacionado com a sobrevivência das estacas (MONTEUUIS *et al*., 1995). Num estudo realizado com plantas-mães de *Acacia mangium* com quatro anos de idade, MONTEUUIS *et al*. (1995) constataram que uma baixa produção de *callus* era acompanhada de uma elevada mortalidade das estacas assim como, na *Sequoia sempervirens* e na *Tectona grandis,* a elevada sobrevivência correspondeu a uma produção de *callus* de elevadas dimensões. Também para *Syringa vulgaris* e *Cotinus coggygria,* duas espécies arbustivas de difícil enraizamento, a mortalidade das estacas lenhosas se associou com a ausência de raízes ou de *callus* (HOWARD, 1996). Como nas estacas retiradas de sobreiros enxertados se verificou uma correlação inversa e altamente significativa entre as estacas com *callus* e estacas mortas e nas estacas de plantas jovens se observou uma maior produção de *callus* associada a uma maior mortalidade, parece, pois, que a formação de tecido caloso poderá corresponder a funções diferentes, consoante a origem do material vegetal.

Efeitos ambientais durante o enraizamento

O sucesso do enraizamento está dependente das condições ambientais a que as estacas estão sujeitas durante o período de formação de raízes.

Para algumas espécies a redução da luminosidade durante o período de

enraizamento pode contribuir para aumentar a capacidade de formação de raízes adventícias. Diversos autores apontam para a necessidade de usar o ensombramento, como forma de evitar a subida da temperatura do ar e o défice hídrico da estaca, mantendo o mais baixo possível o seu potencial osmótico. Outros consideram, no entanto, fundamental manter durante o enraizamento níveis de luminosidade que favoreçam a fotossíntese. ZACZEK *et al*. (1997) estudaram o efeito do ensombramento no enraizamento de folhosas consideradas recalcitrantes (*Quercus alba*, *Q. ellipsoidalis*, *Q. palustris*, *Acer griseum*, *A. rubrum*, *A. saccharum* e *Cornus kousa*) e verificaram que a redução da luminosidade aumentou significativamente a capacidade de enraizamento e o número de raízes por estaca, permitindo encurtar a metade a duração do período de enraizamento. No entanto, para o sobreiro, a aplicação de ensombramento, durante todo o período em que as estacas se mantiveram na bancada, não favoreceu o enraizamento. Na realidade, as estacas que se mantiveram ensombradas apresentaram um enraizamento de cerca de três vezes inferior ao das estacas sujeitas às condições de luminosidade normais, dentro da estufa. MOE e ANDERSON (1988) ao analisarem os resultados de vários ensaios de enraizamento em ambiente controlado, concluíram que o efeito de diferentes intensidades de radiação no enraizamento depende fundamentalmente das condições de luminosidade a que os pés-mães se desenvolveram. Assim, para uma determinada intensidade de radiação, durante o enraizamento, a capacidade de desenvolvimento das raízes parece aumentar com a intensidade de radiação aplicada nos pés-mães, mas apenas até um determinado nível, a partir do qual, os efeitos produzidos no enraizamento passam a ser contrários. LEAKEY e STORETON-WEST (1992) chegaram à mesma conclusão, num estudo realizado em ambiente controlado com plantas de *Triplochiton scleroxylon*, mas chamam a atenção para os problemas de extrapolar para condições naturais os resultados experimentais. Segundo estes autores, para valores de radiação elevados é difícil conseguir-se artificialmente, características qualitativas semelhantes às encontradas na luz natural.

O substrato de propagação é um factor que pode influenciar a formação de raízes nas estacas, não só em termos quantitativos como também qualitativos. Para além das funções de suporte do material vegetal, o meio contribui também para manter a humidade junto das estacas, permitindo a realização das trocas gasosas necessárias para a formação das raízes. Embora alguns autores (LOACH, 1988; AL-SAQRI e ALDERSON, 1996) refiram que as condições da estufa, a temperatura do substrato, a época do ano em que decorrem os ensaios e o tipo de material vegetal em estudo possam condicionar as proporções dos diferentes substratos a utilizar, os resultados dos ensaios obtidos com estacas de plantas jovens não mostraram diferenças significativas na capacidade de enraizamento para as diferentes misturas usadas.

A temperatura do substrato apresentou-se como a principal fonte de variação na resposta das estacas. Os valores mais elevados de enraizamento obtiveram-se a 28ºC, enquanto que formação de *callus*, não resposta e estacas mortas associaram-se à temperatura de 25ºC. Estes resultados vêm reforçar os já alcançados por BARNESCHI (1971), mostrando que,

para o sobreiro, temperaturas do substrato mais elevadas (29,9ºC) do que as normalmente aconselhadas (25ºC) são favoráveis para o enraizamento. Note-se, porém, que vários autores indicam não ser aconselhável que a temperatura do substrato se eleve acima de 25ºC, em virtude das condições de humidade relativa e temperatura existentes nas estufas serem propícias ao aparecimento de doenças (ROULUND, 1971; PORLINGIS e THERIOS, 1976; POISSONNIER, 1978; LOACH, 1988; STANKOVA e PANETSOS, 1997).

Em estudos realizados com *Chrysanthemum* e *Forsythia* verificou-se que a influência da temperatura do substrato variava consoante a fase do desenvolvimento do sistema radicular. A temperatura do substrato de 30ºC favoreceu a iniciação dos primórdios radiculares, no entanto, o seu crescimento foi beneficiado pela diminuição da temperatura para 25ºC. Alguns investigadores realizaram ensaios de multiplicação vegetativa de Inverno, utilizando diferentes regimes diários para a temperatura do substrato, com vista a encontrar soluções mais económicas e igualmente com bons resultados de enraizamento (COOPER, 1977 e SCOTT, 1980 citados em LOACH, 1988). Segundo estes trabalhos e para as espécies estudadas foi considerado vantajoso reduzir o aquecimento do substrato apenas durante uma parte do dia. Embora se tenha verificado uma maior rapidez no enraizamento das estacas sujeitas a um aquecimento contínuo, em termos de resultados finais as percentagens de enraizamento dos vários tratamentos não foram significativamente diferentes. Razões de ordem logística e também económica impediram a realização de estudos mais aprofundados do efeito deste factor no enraizamento do sobreiro, bem como no crescimento das raízes. Daí que, em face dos resultados obtidos, se tenha decidido optar, nos ensaios seguintes, pelo uso de uma temperatura do substrato de 28ºC.

Efeito do IBA

Os resultados alcançados com a aplicação de hormonas de enraizamento não são sempre reprodutíveis, mostrando-se dependentes não só das condições ambientais em que decorrem os ensaios, como também das plantas-mães ou do próprio clone (BLAZICH, 1988).

HARTMANN *et al*. (1997) e BLAZICH (1988) consideram a imersão da base das estacas em solução concentrada de IBA, durante cinco segundos, mais eficaz do que a aplicação de pó comercial. No entanto, os resultados obtidos neste trabalho não indicaram diferenças significativas. ROMANO *et al*. (1992) também não constataram a existência de diferenças significativas entre estes dois métodos de aplicação de IBA.

Os vários ensaios de estacaria estabelecidos com diferentes *Quercus* sp. mostraram que, de um modo geral, este género se apresenta como sendo de difícil propagação, daí que HARTMANN *et al*. (1997) aconselhem a aplicação de concentrações elevadas de IBA. Estes autores referem alguns estudos de estacaria em *Quercus virginiana*, *Q. laurifolia* e *Q. shumardii*, nos quais concentrações de IBA entre 1% e 1,2% induziram os melhores resultados de enraizamento. Em *Quercus virginiana*, MORGAN *et al*. (1980) mostraram que concentrações de IBA da ordem de 2,5% foram favoráveis ao enraizamento de estacas retiradas de plantas com quatro anos de idade, embora com material

mais jovem, as melhores percentagens se verificassem com 1,5% de IBA. O tratamento de estacas de árvores adultas de *Quercus alba*, *Q. ellipoidales* e *Q. pallustris* com 1% de IBA influenciou positivamente não só o enraizamento, como também o número de raízes por estaca (ZACZEK *et al*., 1997).

Para o material retirado de sobreiros jovens (ano e meio de idade), as melhores percentagens de enraizamento foram obtidas com uma concentração de 0,5% de IBA. Só as concentrações de 4% e 8% de IBA se apresentaram mais desfavoráveis. RIBEIRO (1993), num ensaio de estacaria efectuado com sobreiros de seis meses de idade, constatou que a aplicação de 0,5% de IBA conduziu aos valores mais elevados de enraizamento. Esta concentração induziu o maior número de raízes por estaca, assim como aumentou o comprimento da maior raiz. Segundo este autor, a aplicação de 2% de IBA mostrou-se excessiva para este material, provocando uma elevada mortalidade. Porém, para o material proveniente de enxertos, a concentração de IBA de 1% mostrou-se como a mais favorável ao enraizamento. Parece, pois, poder concluir-se que o material vegetativo retirado de plantas mais jovens é menos tolerante a concentrações elevadas de IBA.

Para o ensaio estabelecido em 1993, não se constataram diferenças significativas para as diferentes concentrações de IBA. MONTEUUIS *et al*. (1995) também constataram divergências na resposta de estacas de *Acacia mangium* ao tratamento de IBA, justificando-as como consequência de interferências nos ritmos endógenos das plantas de pequenas alterações nas condições ambientais.

No global, a interacção do clone com a concentração de IBA não se mostrou significativa, no entanto, os clones que mostraram capacidade de enraizamento mais elevada responderam favoravelmente à aplicação de 1% IBA. Este facto sugere uma possível preponderância do efeito do clone sobre o tratamento auxiníco. Ao contrário, STANKOVA e PANETSOS (1997), em *Cupressus sempervirens* constataram para o efeito do IBA, diferenças significativas na capacidade de enraizamento e de formação de *callus* entre os vários genótipos analisados.

DAVIES (1984) verificou, em *Ficus pumila,* que a aplicação de IBA em plantas jovens foi suficiente para eliminar as variações do enraizamento devidas à época de colheita. Já relativamente ao material retirado de plantas adultas, a concentração óptima de IBA estava dependente daquele efeito. Para o sobreiro, a aplicação de IBA no enraizamento não se mostrou dependente da época de colheita, tanto nas estacas retiradas de plantas jovens, como nas enxertadas. No entanto, relativamente à formação de *callus* (em material enxertado), a interacção da concentração de IBA com a época de colheita apresentou-se significativa. Na realidade, nos dois anos em estudo, as concentrações de IBA de 1% e de 2%, respectivamente em Outubro e Junho, conduziram às mais elevadas percentagens de estacas com *callus*. A existência de uma relação positiva entre a formação de *callus* e raízes sugere que, apesar de não se observarem diferenças significativas no enraizamento será necessário uma concentração mais elevada de IBA em Junho para estimular este processo. Para analisar com mais cuidado este efeito, deveria, em diferentes épocas, estudar-se a acção da concentração de IBA, tanto em material jovem como enxertado. Na

realidade, POUPARD *et al.* (1994) constataram, para a *Acacia mangium*, uma interacção significativa entre o tratamento de IBA e a idade da planta-mãe. Estes autores sugerem que as diferenças observadas na resposta destes dois tipos de material possam estar relacionadas com uma melhor receptividade dos tecidos jovens ao tratamento auxínico. Uma das acções das auxinas na formação de raízes está relacionada com a expansão celular dos diferentes tecidos do córtex, do floema e do câmbio, provocando rupturas no anel contínuo dos feixes perivasculares (HARTMANN *et al*., 1997).

Duração do enraizamento

Em termos globais, os valores mais elevados de enraizamento foram alcançados mantendo as estacas durante quatro meses no substrato. Os resultados indicaram que ao fim de um mês do início do ensaio, a percentagem de estacas com *callus* já se encontrava definida, no entanto o número de estacas com raízes visíveis ainda era reduzido. Contrariamente, em estacas retiradas de sobreiros com idades compreendidas entre quatro e seis meses, RIBEIRO (1994) verificou a existência de diferenças significativas na percentagem de formação de *callus* após dois e três meses do início do ensaio. Em Julho e Agosto, três meses de permanência das estacas foram suficientes para se atingirem valores elevados na percentagem de formação de raízes. Períodos superiores prejudicaram a sobrevivência das estacas. Uma vez que não se aplicou adubação, justifica-se assim, a mortalidade das estacas já enraizadas ao fim de cinco meses. Uma duração de quatro meses em bancada de enraizamento já justifica a incorporação no substrato de um adubo de libertação lenta, podendo contribuir para aumentar a sobrevivência das estacas. A adubação durante o enraizamento é normalmente evitada, devido ao possível aumento da concentração de sais no meio. No entanto, SPETHMANN e HARMS (1993) num estudo com *Quercus robur* e *Q. petraea* constataram que a aplicação de uma concentração baixa de "Osmocote" (1,5-2,5 gl-1) induziu um acréscimo na capacidade de enraizamento e na sobrevivência das plantas enraizadas. Estes autores aconselham baixas concentrações do adubo para evitar excessiva salinidade.

É importante promover o encurtamento da duração do enraizamento pela dificuldade em manter, durante um período longo, as condições ambientais necessárias para conservar as estacas em bom estado, como também para reduzir os custos associados. Neste sentido, propõe-se a análise de alguns factores capazes de anteciparem a iniciação das raízes. Estudos realizados com a oliveira mostraram que a juvenilidade é um desses factores (PORTINGIS e THERIOS, 1976). Também vários autores constataram que a aplicação de IBA acelera o processo de formação de raízes (AL-BARAZI e SCHWABE, 1982; BLAZICH, 1988; ZACZEK *et al.*, 1997; STANKOVA e PANETSOS, 1997). Em sobreiros jovens, RIBEIRO (1994), escurecendo a zona do caule correspondente à base da futura estaca induziu alterações anatómicas e histológicas relacionadas com a formação de raízes ou de tecido caloso, indicando uma antecipação destes processos, relativamente ao material não sujeito ao tratamento.

Intervenção na planta-mãe

No enraizamento de estacas retiradas de sobreiros jovens, a época de colheita constituiu a segunda maior fonte de variação, correspondendo o mês de Agosto às percentagens mais elevadas. Os resultados alcançados com material retirado de clones enxertados confirmaram esta tendência, apontando para Julho e Agosto como sendo as épocas com maiores sucessos de enraizamento e com mais baixa mortalidade. Na região de Évora, onde se encontra o parque de clones, os valores médios de insolação, radiação global, temperatura diária do ar e temperatura máxima são mais elevadas durante os meses de Junho, Julho e Agosto (REIS e GONÇALVES, 1987) As condições de luminosidade das plantas-mães influenciam as respostas de enraizamento (MOE e ANDERSON, 1988; CHALUPA, 1993), pois favorecendo a fotossíntese e a acumulação de reservas podem contribuir para uma melhoria na resposta do enraizamento das suas estacas. As reservas seriam utilizadas não só, no crescimento de novos rebentos, induzidos pelas podas consecutivas, como também na formação e desenvolvimento dos primórdios radiculares das estacas retiradas. É também durante Julho e Agosto que as temperaturas mínimas (nocturnas) sobem aos 15ºC, valor considerado como o mínimo favorável para o enraizamento de estacas para a maioria das espécies (HARTMANN *et al.*, 1997).

Foi importante constatar o efeito do clone na capacidade de enraizamento das estacas de sobreiro. As variações observadas entre os vários clones são comparáveis com os resultados obtidos para outras espécies. Na estacaria de *Picea abies*, ROULUND (1971) obteve capacidades de enraizamento que variaram entre 3% e 39%, utilizando plantas-mães com oito anos de idade, enquanto que MILLER *et al*. (1982), com ortetos de 12 anos de *Abies fraseri*, obtiveram valores de enraizamento compreendidos entre 3% e 78%.

Parece que o efeito do clone se sobrepõe à influência da época de colheita das estacas, já que os clones com enraizamentos reduzidos não reagiram à época de colheita. As diferenças nas respostas observadas entre os clones podem ser atribuídas quer a variações no genótipo, quer a factores internos relacionados com a planta dadora (MILLER *et al*., 1982; GREENWOOD e HUTCHISON, 1993). Para BURDON *et al*. (1992) o estado de maturação transmitido pela planta dadora constitui um dos factores que mais contribui para afectar a variabilidade clonal, sobrepondo-se mesmo ao efeito do genótipo.

A técnica da enxertia é um dos factores que pode induzir variabilidade no enraizamento de estacas, devido ao efeito de pré-condicionamento ambiental transmitido no meristema retirado da planta dadora. Num estudo realizado em *Quercus rubra*, ZACZEK e STEINER (1997) constataram que a enxertia de gomo de árvores adultas não só contribuiu para aumentar a percentagem de enraizamento de estacas retiradas desses clones, como também alterou a morfologia das folhas (de adultas para juvenis), sugerindo um certo rejuvenescimento, devido, essencialmente, ao efeito do meristema enxertado e não à acção do porta-enxertos. No entanto MOON e YI (1993), sugerem que a juvenilidade do porta-enxertos seja a responsável pela uniformidade e elevado enraizamento obtidos na estacaria de *Quercus acutissima,* na qual se utilizou material

retirado de plantas sujeitas a um segundo ciclo de enxertia.

Os resultados obtidos no sobreiro indicam que a acção da enxertia a nível do enraizamento é devida ao possível rejuvenescimento da árvore-mãe, constatando-se mesmo que o material rejuvenescido vai ele próprio envelhecendo ao longo do tempo. De facto, quanto menos tempo a planta tinha de enxertada, maior era o enraizamento e menor a mortalidade das suas estacas. Esta observação foi particularmente evidente com o clone 8/6-6, que em 1992, com três anos de enxertia, foi o pior e em 1993, com dois anos de enxertia, foi o melhor.

Para CHALUPA (1993) e SPETHMANN e HARMS (1993) a poda de plantas-mães de *Quercus robur* e de *Q. petraea*, de várias idades, constituiu uma técnica efectiva para produzir estacas de elevado potencial de enraizamento e sobrevivência. Esta técnica elimina a área da copa que corresponde a fases mais maduras e que contém estacas com menor capacidade de enraizamento. Em duas espécies arbustivas de difícil enraizamento, HOWARD (1996) verificou que a aplicação de uma poda intensa nos pés-mães aumentou a capacidade de enraizamento. Para este autor, o ligeiro acréscimo em diâmetro e em de matéria seca observados nos rebentos de plantas sujeitas a uma poda suave, foi o suficiente para induzir condições fisiológicas e anatómica adversas ao enraizamento.

No estudo do efeito de dois níveis de intensidade de poda, realizadas em plantas-mães de três clones de sobreiro, apenas se verificaram diferenças significativas nas interacções deste factor com a época de colheita e com o clone. Em termos de enraizamento e de mortalidade verificou-se uma preponderância do efeito do clone sobre a intensidade de poda. Os clones com menor capacidade de enraizamento não pareceram beneficiar com a aplicação de uma poda intensa dos pés-mães. Esta modalidade apenas aumentou a percentagem de formação de raízes e a sobrevivência no clone 7/8A-10, não surtindo efeitos em 7/8A-20 e aumentando por sua vez a mortalidade do 8/6-19. Também STANKOVA e PANETSOS (1997) constataram que a poda de plantas-mães de *Cupressus sempervirens* com quatro anos de idade foi prejudicial ao enraizamento, devido eventualmente, à fragilidade do material resultante das plantas podadas, dificultando a sua sobrevivência, face às condições ambientais durante o enraizamento.

Conclusões e perspectivas futuras

Constata-se ser possível a multiplicação de sobreiros adultos por estacaria, se previamente rejuvenescidos por enxertia homoplástica de gomo em porta-enxertos jovens. A época mais favorável para o rejuvenescimento por enxertia foi o mês de Setembro, perspectivando-se, deste modo, a utilização desta técnica, para o estabelecimento de um parque de clones, com vista à multiplicação de sobreiros seleccionados.

Dos ensaios de estacaria retiram-se as seguintes conclusões em relação ao enraizamento:

- ausência de diferenças significativas entre as diferentes misturas de substratos estudadas;
- a temperatura do substrato é um factor fundamental para o enraizamento de estacas jovens (melhores resultados a 28^{o}C);
- a aplicação frequente de anti-fúngicos, durante o enraizamento é

indispensável, como forma de prevenir o aparecimento de doenças, dadas as elevadas condições de humidade e temperatura prevalecentes;

• a época do ano para a colheita de estacas é um factor decisivo para o sucesso do enraizamento (Julho e Agosto são os meses mais convenientes);

• a permanência das estacas em bancada de enraizamento por um período de quatro meses é a mais favorável. Uma permanência mais longa, sem qualquer aplicação de adubo, induziu uma elevada mortalidade. Para períodos superiores a três meses é importante estudar a adubação a aplicar (quer tipo libertação lenta, quer foliar);

• os efeitos do clone e da idade de enxertia do rameto são mais determinantes do enraizamento do que a época de colheita das estacas. Relativamente ao clone será importante quantificar e distinguir as componentes genotípica e ambiental transmitida pela planta dadora;

• ser indispensável uma produção contínua de enxertos, mantendo no parque de clones apenas os rametos jovens. Propõe-se um estudo que avalie o efeito no enraizamento de sucessivos ciclos de enxertia, já que a enxertia em cascata poderá conduzir também a uma melhoria da capacidade de enraizamento;

• a poda dos rametos do parque de clones, por si só, não é uma técnica efectiva para induzir o enraizamento, uma vez ser influenciada tanto pelo clone como pela época de colheita de estacas;

• estacas de plantas jovens são menos tolerantes a concentrações elevadas de IBA do que as provenientes de material de enxertia. O efeito do IBA parece independente da época do ano e do clone, devendo aprofundar-se este assunto;

O enraizamento é o primeiro passo do estabelecimento de um processo eficaz de produção de plantas de origem vegetativa. Todavia, esse processo tem etapas subsequentes que obrigam ao estudo dos diferentes condicionalismos relativos à aclimatização, à fertilização e à transplantação, de modo a garantir a sobrevivência máxima do material enraizado.

Bibliografia

AL-SAQRI, F., ALDERSON, P.G., 1996. Effects of IBA, Type and Rooting Media on Rooting of *Rosa centifolia*. *Journal of Horticultural Science* **71**(5) : 729-737.

AL-BARAZI, Z., SCHWABE, 1982. Rooting Softwood Cuttings of Adult *Pistacia vera*. *Journal of Horticultural Science* **57**(2) : 247-252.

ALMEIDA, H., CHAMBEL, M.R., HENRIQUES, J.L., PEIXOTO, M., CARVALHO, V., MARTINS, A., 1997. *Estudo da Variabilidade Genética do Sobreiro em Portugal*. Livro de Comunicações da "European Conference on Cork Oak and Cork", Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, pp. 237-247.

ALPUIM, M., ROLDÃO, M.I., 1993. *Quercus suber* L. Breeding Strategy for Cork Quality. *Annales des Sciences Forestières* **50** (Suppl. 1): 444s-447s.

ANÓMIMO, 1986. *Perfil Florestal*. Divisão de Estudos Económicos, Instituto dos Produtos Florestais, Lisboa.

BARNESCHI, L., 1977. A Criação de Raízes em Renovos de Ramos de *Quercus suber* L. *Bol. do Inst. Prod. Flor.- Cortiça* **466**: 465-470.

BLAZICH, F.A., 1988. Chemicals and Formulations Used to Promote Adventitious Rooting. *In*: DAVIS, T.D., HAISSING, B.E., SANKHLA, N. (ed.) "*Adventitious Root Formation in Cuttings*" vol 2, Dioscorides Press, Portland, Oregon, pp. 132-149.

BORGES, M., CUNHA, C., 1985. A Floresta do Sobreiro, sua Cultura e Repovoamento. Perspectivas, Circuitos de Aprovisionamento. *Boletim do Instituto dos Produtos Florestais* **564**: 649-653.

BURDON, R.D., BANNISTER, M.H., LOW, C.B., 1992. Genetic Survey of *Pinus radiata*: Variance Strutures and Heritabilities in Juvenile Clones. *New Zealand Journal of Forest Science* **22**(2-3) : 187-210.

CARVALHO, A., 1989. *Considerações sobre Silvotecnologia em Subericultura*. *In*: "Identificação de Prioridades e Recursos de I&D sobre Cortiça", Workshop organizado pela Fundação Luso-Americana para o Desenvolvimento, Lisboa, 13-14 Julho 1988, pp. 81-104.

CARVALHO, A., 1991. *Classificação e Zonagem de Qualidade das Cortiças Portuguesas. Inventariação dos Sobreiros Produtores de Cortiça de Superior Qualidade*. Relatório Final do Projecto PIDDAC 002, 1988-1990. INIA-EFN.

CHALUPA, V., 1993. Vegetative Propagation of Oak (*Quercus robur* and Q. *petraea*) by Cutting and Tissue Cultured. *Annales des Sciences Forestières* **50**(Suppl. 1): 295s-307s.

CORREIA, C.A.P., 1981. Aspectos Suberícolas da Investigação ao Serviço de uma subericultura Renovada. *Bol. Inst. Prod. Flor.- Cortiça* **511** : 112-119.

DAVIES, F.T., 1984. Shoot RNA, Cambrial Activity and Indolbutyric Acid Efectivity in Seasonal Rooting of Juvenile and Mature *Ficus pumila* Cuttings. *Physiologia Plantarum* **62** : 571-575.

FISHER, R.A., YATES, F., 1971. *Tabelas Estatísticas para Pesquisa em Biologia, Medicina e Agricultura*. Editora Polígono, S. Paulo, 150 págs.

GOMES, A.L., 1989. *Regeneração e Melhoramento Genético do Montado de Sobro*. *In*: "Identificação de Prioridades e Recursos de I&D sobre Cortiça", Workshop organizado pela Fundação Luso-Americana para o Desenvolvimento, Lisboa, 13-14 Julho 1988, pp. 67-78.

GREENWOOD, M.S., HUTCHINSON, K.W., 1993. *Maturation as a Developmental Process*. *In*: AHUJA, M.R. e LIBBY, W. J. (ed.), "Clonal Forestry I. Genetics and Biotechnology" pp. 14-33. Springer-Verlag, Berlim, Heidelberg, New York.

HARTMANN, H., KESTER, D., DAVIES, F., GENEVE, R., 1997. *Plant Propagation. Principles and Practices*. Prentice- Hall, New Jersey, 6ª edição, 770 págs.

HOWARD, B.H., 1996. Relationships Between Shoot Growth and Rooting of Cuttings in Three Contrasting Species of Ornamental Shrub. *Journal of Horticultural Science* **71**(4): 591-605.

LEAKEY, STORETON-WEST, 1992. The Rooting Ability of *Triplochiton scleroxylon* Cuttings: the Interactions Between Stock Plant Irradiance, Light Quality and Nutrients. *Forest Ecology and Management* **49**: 133-150.

LOACH, K., 1988. Controlling Environmental Conditions to Improve Adventitious Rooting. *In*: DAVIS, T.D., HAISSING, B.E., SANKHLA, N. (ed.) "*Adventitious Root Formation in Cuttings*" vol 2, Dioscorides Press, Portland, Oregon, pp. 248-273.

MENDES, A.S.C., 1997. *Tendências de Evolução da Economia do Sector da Cortiça em Portugal*. Livro de Comunicações da "European Conference on Cork Oak and Cork", Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, pp. 469-492.

MILLER, N.F., HINESLEY, L.E., BLAZICH, F.A., 1982. Propagation of Fraser Fir by Stem Cuttings: Effects of Type of Cuttings, Length of Cuttings and Genotype. *Hortscience* **17**(5): 827-829.

MOE, R., ANDERSEN, A.S., 1988. *Stock Plant Environmental and Subsequent Adventitious Rooting*. *In*: DAVIS, T.D., HAISSING, B.E., SANKHLA, N. (ed.) "Adventitious Root Formation in Cuttings" vol 2, Dioscorides Press, Portland, Oregon, pp. 214-234.

MONTEUUIS, O., VALLAURI, D., POUPARD, C., CHAUVIÈRE, M., 1995. Rooting *Acacia mangium* Cuttings of Diferent Physiological Age with Reference to Leaf Morphology as a Phase Change Marker. *Silvae Genetica* **44**(2-3): 150-154.

MOON, H.K., YI, J.S., 1993. Cutting Propagation of *Quercus acutissima* Clones After Rejuvenation Through Serial Grafting. *Annales des Sciences Forestières* **50**(Suppl. 1) : 314s-318s.

MORGAN, D.L., MCWILLIAMS, E.L., PARR, W.C., 1980. Maintaining Juvenility in Live Oak. *Hortscience* **15**(4): 493-494.

NATIVIDADE, J.V., 1939. O Problema da Qualidade da Cortiça nos Sobreirais do Norte do Tejo. *Bol. Junta Nacional Cortiça* **9**: 5-13.

PEARCE, S.C. 1978. *Introduction a la Statistique en Biologie*. Editions S.E.I. C.N.R.A.- Versailles, 260 págs.

PORLINGIS, I.C., THERIOS, I. 1976. Rooting Response of Juvenile and Adult Leafy Olive Cuttings to Various Factors. *Journal Horticultural Science* **51**: 31-39.

POISSONNIER, M., 1978. Essais Préliminaires sur le Bouturage du Chataignier. *AFoCel 1978* : 265-275.

POUPARD, C., CHAUVIÈRE, M., MONTEUUIS, O., 1994. Rooting *Acacia mangium* Cuttings: Effects of Age, Within-Shoot Position and Auxin Treatment. *Silvae Genetica* **43**(4): 226-231.

REIS, R.M.M., GONÇALVES, M.Z., *1987*. O Clima de Portugal. Caracterização Climática da Região Agrícola do Alentejo. *Fascículo XXXIV*, Instituto Nacional de Meteorologia e Geofísica.

RIBEIRO, M. M.A.R., 1993. *Ensayo de Enraizamento de Estaquillas del Alcornoque* (*Quercus suber* L.). Livro de Comunicações do Congresso Florestal Espanhol, vol. 2, pp. 233-238, Lourizán.

RIBEIRO, M.M.A.R., 1994. *Propagação do Sobreiro (*Quercus suber *L.) por Estacaria*. Tese de Mestrado em Produção Vegetal, Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, 109 pp..

ROLDÃO, I.F., 1986. *Perspectivas para o Melhoramento Florestal da Espécie* Quercus suber *L.* Livro de Comunicações do "I Congresso Florestal Nacional", Lisboa, pp. 117-119.

ROMANO, A., NORONHA, C., CAÇORINO, A.I., MARTINS-LOUÇÃO, A., 1992. *Técnicas de Propagação Aplicadas ao Melhoramento do Sobreiro*. Livro de Comunicações do "Segundo Encontro de Montados de Sobro e Azinho" pp. 196-202, Évora, 4 e 5 de Junho de 1992

ROULUND, H. 1971. Experiments with Cuttings of *Picea abies*, *Picea sitchensis* and the Hybrid *Picea omorika* x *sitchensis*. *Forest Tree Improvement* **3**: 25-57.

SIEGEL, S., CASTELLAN Jr, N.J., 1988. *Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences*. McGraw-Hill International Editions, 399 págs.

SPETHMANN, W., HARMS, P., 1993. Influence of Fertilized Substrate on Rooting and Growth of Oak Cuttings. *Annales des Sciences Forestières* **50** (Suppl. 1): 308s-313s.

STANKOVA, T., PANETSOS, K., 1997. Vegetative Propagation of *Cupressus sempervirens* L. of Cretan Origin by Softwood Stem Cuttings. *Silvae Genetica* **46**(2-3) : 137-144.

VALDECANTOS, J.L.G., 1992. Las Técnicas de Selección y Propagación en la Mejora Genética del Alcornoque. *Scientia Gerundensis* **18** : 11-15.

VARELA, M.C., ERIKSSON, G., 1995. Multipurpose Gene Conservation in *Quercus suber*- a Portuguese Example. *Silvae Genetica* **44**(1): 28-37.

ZACZEK, J.J., STEINER, K.C., 1997. Grafting-Mediated Meristem Selection Influences Rooting Sucess of *Quercus rubra*. *Canadian Journal Forest Research* **27**(1): 86-90.

ZACZEK, J.J., HEUSER, C.W., STEINER, K.C., 1997. Effect of Shade Levels and IBA During the Rooting of Eight Tree Taxa. *J. Environ Hort*. **15**(1): 56-60.

ZOBEL, B., 1992. Vegetative Propagation in Prodution Forestry. *Journal of Forestry* **90**(4): 29-33.

Submetido para publicação em Janeiro de 2002
Aceite para publicação em Março de 2002