

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**PROPAGAÇÃO DE ERVA-MATE POR ESTAQUIA:
ENRAIZAMENTO, RESPOSTAS METABÓLICAS AO
ÁCIDO INDOLBUTÍRICO (AIB) E
DESENVOLVIMENTO DE MUDAS APÓS O
PLANTIO**

VALESCA FRANCIELE JOANA MELLO HETTWER

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, para obtenção do título de Doutora em Agronomia - Área de Concentração em Produção Vegetal.

Passo Fundo, abril de 2016

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**PROPAGAÇÃO DE ERVA-MATE POR ESTAQUIA:
ENRAIZAMENTO, RESPOSTAS METABÓLICAS AO
ÁCIDO INDOLBUTÍRICO (AIB) E
DESENVOLVIMENTO DE MUDAS APÓS O
PLANTIO**

VALESCA FRANCIELE JOANA MELLO HETTWER

**ORIENTADOR: Prof. Dr. ALEXANDRE AUGUSTO NIENOW
COORIENTADORA: Profa. Dra. JUREMA SCHONS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, para obtenção do título de Doutora em Agronomia - Área de concentração em Produção Vegetal.

Passo Fundo, abril de 2016.

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a tese

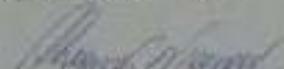
**"PROPAGAÇÃO DE ERVA-MATE POR ESTAQUEIA; ENRAIZAMENTO, RESPOSTAS METABÓLICAS AO ÁCIDO
INDOLBUTÍRICO (AIB) E DESENVOLVIMENTO DE MUDAS APÓS O PLANTIO"**

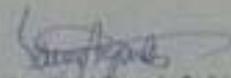
Elaborada por

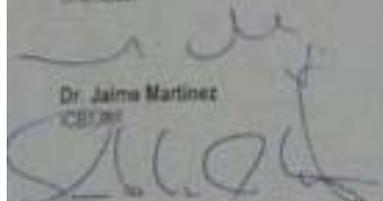
Valesca Franciele Joana Nello Hettwer

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
"Doutora em Agronomia - Área de Produção Vegetal"

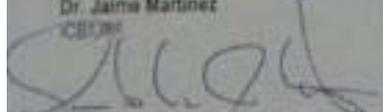
Aprovada em: 28/04/2016
Pela Comissão Examinadora

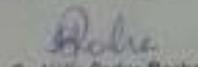

Dr. Alexandre Augusto Nienow
Presidente da Comissão Examinadora
Orientador


Dra. Tania Bisognin Garlet
UFPA


Dr. Jaime Martinez
ICBZ/RS


Dra. Eunice Oliveira Calvete
Coordenadora PPGAgro


Dr. Geraldo Luiz Chavaria Lamas Júnior
FAMV/UPF


Dr. Helio Carlos Rocha
Doutor FAMV


Dra. Vera Lucia Schons
ICBZ/UPF

CIP – Catalogação na Publicação

H591p Hettwer, Valesca Franciele Joana Mello
Propagação de erva-mate por estaquia : enraizamento,
respostas metabólicas ao ácido indolbutírico (AIB) e
desenvolvimento de mudas após o plantio / Valesca
Franciele Joana Mello Hettwer. – 2016.
127 f. : il. ; 25 cm.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Augusto Nienow.
Coorientadora: Profa. Dra. Jurema Schons.
Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de
Passo Fundo, 2016.

1. Açúcar. 2. Erva-mate. 3. Plantas - Plantio. 4. Ácido
indolbutírico. I. Nienow, Alexandre Augusto, orientador.
II. Schons, Jurema, coorientadora. III. Título.

CDU: 633.77

Catalogação: Bibliotecário Luís Diego Dias de S. da Silva – CRB 10/2241

AGRADECIMENTOS

Aos meus queridos pais, Egon Hettwer e Vera Terezinha Mello Hettwer, que me trouxeram com todo o amor e carinho a este mundo, dedicaram, cuidaram e me apoiaram em forma de amor e trabalho por mim, despertando e alimentando a minha personalidade, ainda na infância, demonstrando a importância dos estudos na vida de uma pessoa, com algumas frases: “Quer ser alguém na vida filha, estuda...”, “Se esforce desde o início que tudo fica mais fácil”... entre outros tantos conselhos. Agradeço também pela ajuda no presente trabalho, nas idas ao Campo Experimental da UPF (Cepagro) e também por compreenderem minha ansiedade, nervosismo e ausência muitas vezes, e por transparecerem orgulho por serem meus pais, me deixa muito feliz. Amo imensamente vocês meus pais!

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Alexandre Augusto Nienow. Foram cinco anos de orientação, contando com o Mestrado. Obrigada pela transmissão do conhecimento, pela dedicação, pelo desempenho, pelo profissionalismo, pelas tentativas incansáveis de me fazer refletir, por me fazer ouvir e entender. Aprendi muito com as orientações. Também, agradeço à minha querida coorientadora Profa. Dra. Jurema Schons, pelos conhecimentos adquiridos, pela paciência, conselhos e profissionalismo. “Professor não somente ensina matérias, professor disciplina alunos, aconselha, gerencia atividades, planeja o futuro e, principalmente, é formador de opinião, professor nos faz pensar, refletir, colocar as ideias no lugar. O que seria de nós sem os professores que aliados aos pais nos formam personalidades do bem”.

Agradeço à Profa. Dra. Ms. Simone Basso, pelos ensinamentos e pelo apoio aos estudos estatísticos.

Aos colegas e amigos nessa jornada de estudos, entre eles Rosiane, Fabiola, Fernanda, Patricia, Cláudia, Laura, Gustavo e Leandro.

Tenho muito a agradecer à Universidade de Passo Fundo (UPF), que abriu as portas para eu estudar, pela excelente Universidade e quadro qualificado de professores e funcionários.

À CAPES, pela concessão de bolsa de estudos, pois sem essa não seria possível chegar até aqui. Muito Obrigada!

À minha vizinha Alcy, que não pode presenciar este momento até o final, mas que sentia um orgulho imenso pela neta que cursava Doutorado. Amo você eternamente.

Às minhas irmãs, Patrícia e Michele, que sempre me apoiaram e me aconselharam inúmeras vezes. Também agradeço o carinho dos meus sobrinhos e afilhados.

Agradeço ao meu noivo Thiago, pela compreensão em momentos de estresse, e ausência, e também pelos conselhos e incentivo para estudar.

A Deus, por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	1
ABSTRACT	2
1 INTRODUÇÃO	4
2 REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1 Histórico da erva-mate.....	7
2.2 Importância socioeconômica, ambiental e medicinal da erva-mate.....	8
2.3 Taxonomia e descrição botânica.....	12
2.4 Condições edafoclimáticas.....	13
2.5 Estaquia.....	16
2.5.1 Fatores que influenciam o enraizamento.....	17
2.5.1.2 Fitohormônios e fitorreguladores de crescimento.....	21
2.5.1.2 Mecanismos de ação.....	24
2.6 Peroxidase.....	27
2.7 Açúcares solúveis totais.....	29
2.8 Proteínas solúveis.....	30
CAPÍTULO I - DOSES DE ÁCIDO INDOLBUTÍRICO NO ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE ERVA-MATE	33
RESUMO	33
ABSTRACT	34
1 INTRODUÇÃO	35
2 MATERIAL E MÉTODOS	37
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4 CONCLUSÕES	55
CAPÍTULO II - ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS EM RESPOSTA AO USO DO ÁCIDO INDOLBUTÍRICO (AIB) NA PROPAGAÇÃO POR ESTAQUIA DA ERVA-MATE	57
RESUMO	57
ABSTRACT	58
1 INTRODUÇÃO	59
2 MATERIAL E MÉTODOS	62
2.1 Determinação da atividade da peroxidase.....	64
2.2 Determinação da concentração de proteínas solúveis	65

	Página
2.3 Determinação da concentração de açúcares solúveis totais.....	64
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
3.1 Atividade da peroxidase.....	66
3.2 Açúcares solúveis totais.....	75
3.3 Proteínas solúveis.....	83
4 CONCLUSÕES	91
CAPÍTULO III - DESENVOLVIMENTO APÓS O PLANTIO DE MUDAS DE ERVA-MATE <i>CAMBONA 4</i> PRODUZIDAS POR ESTAQUIA	92
RESUMO	92
ABSTRACT	93
1 INTRODUÇÃO	94
2 MATERIAL E MÉTODOS	96
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	98
4 CONCLUSÕES	107
CONSIDERAÇÕES FINAIS	108
REFERÊNCIAS	109
APÊNDICES	124

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I - DOSES DE ÁCIDO INDOLBUTÍRICO NO ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE ERVA-MATE

Tabela		Página
1	Retenção foliar em estacas de cinco genótipos de erva-mate submetidas a doses de AIB. Passo Fundo, RS, 2015.....	40
2	Sobrevivência de estacas de cinco genótipos de erva-mate submetidas a doses de AIB. Passo Fundo, RS.....	40
3	Retenção foliar e sobrevivência de estacas do genótipo de erva-mate G4, no decorrer de 90 dias de estaquia, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS, 2015.....	42
4	Retenção de foliar e sobrevivência de estacas do genótipo erva-mate G28, no decorrer de 90 dias de estaquia, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS, 2015.....	43
5	Retenção foliar e sobrevivência de estacas do genótipo de erva-mate G29, no decorrer de 90 dias de estaquia, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS, 2015.....	45
6	Retenção foliar e sobrevivência de estacas do genótipo de erva-mate G15, no decorrer de 90 dias de estaquia, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS, 2015.....	46
7	Retenção foliar e sobrevivência de estacas do genótipo de erva-mate G25, no decorrer de 90 dias de estaquia, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS, 2015.....	48
8	Enraizamento de estacas de cinco genótipos de erva-mate submetidas a doses de AIB. Passo Fundo, RS.....	50

Tabela		Página
9	Presença de calo em estacas de cinco genótipos de erva-mate submetidas a doses de AIB. Passo Fundo, RS.....	53
10	Massa fresca de raízes de estacas de cinco genótipos de erva-mate submetidas a doses de AIB. Passo Fundo, RS.....	54

CAPÍTULO II - ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS EM RESPOSTA AO USO DO ÁCIDO INDOLBUTÍRICO (AIB) NA PROPAGAÇÃO POR ESTAQUIA DA ERVA-MATE

Tabela		Página
1	Atividade da peroxidase em folhas de estacas de cinco genótipos de erva-mate antes (tempo 0) e aos 6, 12 e 18 dias após a estaquia, tratadas com doses de AIB. Passo Fundo, RS.....	67
2	Variação até 18 dias após a estaquia na atividade da peroxidase em folhas de estacas de cinco genótipos de erva-mate, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS.....	69
3	Atividade da peroxidase em hastes de estacas de cinco genótipos de erva-mate coletadas antes (tempo 0) e aos 6, 12 e 18 dias após a estaquia, tratadas com doses de AIB. Passo Fundo, RS.....	71
4	Variação até 18 dias após a estaquia na atividade da peroxidase em hastes de estacas dos genótipos de erva-mate, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS.....	74
5	Concentração de açúcares solúveis totais em folhas de estacas de cinco genótipos de erva-mate antes (tempo 0) e aos 6, 12 e 18 dias após a estaquia, tratadas com doses de AIB. Passo Fundo, RS.....	76
6	Variação até 18 dias após a estaquia na concentração de açúcares solúveis totais em folhas de estacas de cinco genótipos de erva-mate, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo,	

	RS.....	77
7	Concentração de açúcares solúveis totais em hastes de estacas de cinco genótipos de erva-mate antes (tempo 0) e aos 6, 12 e 18 dias após a estaquia, tratadas com doses de AIB. Passo Fundo, RS.....	79
8	Varição até 18 dias após a estaquia na concentração de açúcares solúveis totais em hastes de estacas de cinco genótipos de erva-mate, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS.....	81
9	Concentração de proteínas solúveis em folhas de estacas de cinco genótipos de erva-mate antes (tempo 0) e aos 6, 12 e 18 dias após a estaquia, tratadas com doses de AIB. Passo Fundo, RS.....	84
10	Varição até 18 dias após a estaquia na concentração de proteínas solúveis em folhas de estacas dos genótipos de erva-mate, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS.....	86
11	Concentração de proteínas solúveis em hastes de estacas de cinco genótipos de erva-mate antes (tempo 0) e aos 6, 12 e 18 dias após a estaquia, tratadas com doses de AIB. Passo Fundo, RS.....	88
12	Varição até 18 dias após a estaquia na concentração de proteínas solúveis em hastes de estacas dos genótipos de erva-mate, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS.....	89

CAPÍTULO III - DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE ERVA-MATE *CAMBONA 4* PRODUZIDAS POR ESTAQUIA

Tabela		Página
1	Altura após o plantio no campo de genótipos de erva-mate <i>Cambona 4</i> propagados por estaquia (G1 a G13) e de mudas obtidas a partir de sementes, de novembro de 2013 a julho de 2015. Passo Fundo, RS.....	100

2	Diâmetro basal do caule após o plantio no campo de genótipos de erva-mate <i>Cambona 4</i> propagados por estaquia (G1 a G13) e de mudas obtidas a partir de sementes, de novembro de 2013 a julho de 2015. Passo Fundo, RS.....	102
---	--	-----

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura	Página
1 Auxinas e citocininas na divisão celular.....	22
2 Receptores de auxinas.....	26

CAPÍTULO I - DOSES DE ÁCIDO INDOLBUTÍRICO NO ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE ERVA-MATE

Figura	Página
1 Estacas de erva-mate do G4 enraizadas nas doses de 0, 3.000, 6.000 e 9.000 mg L ⁻¹ de AIB. Passo Fundo, RS.....	51
2 Estacas de erva-mate do G28 enraizadas nas doses de 0, 3.000, 6.000 e 9.000 mg L ⁻¹ de AIB. Passo Fundo, RS.....	51

CAPÍTULO III - DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE ERVA-MATE *CAMBONA 4* PRODUZIDAS POR ESTAQUIA

Figura	Página
1 Vista da coleção de genótipos de erva-mate <i>Cambona 4</i> , com mudas multiplicadas por estaquia e por semente, em julho de 2015. Passo Fundo, RS, 2015.....	97
2 Genótipos de erva-mate <i>Cambona 4</i> multiplicadas por estaquia com satisfatório desenvolvimento no campo - julho de 2015. Passo Fundo, RS, 2015.....	104

**PROPAGAÇÃO POR ESTAQUIA DE ERVA-MATE:
ENRAIZAMENTO, REAÇÕES BIOQUÍMICAS AO ÁCIDO
INDOL BUTÍRICO (AIB) E DESENVOLVIMENTO DA MUDA
APÓS O PLANTIO**

VALESCA FRANCIELE JOANA MELLO HETTWER¹

RESUMO – A propagação por estaquia é uma das alternativas para se obter ervais uniformes e produtivos. O ácido indolbutírico (AIB) tem demonstrado ser eficiente na indução de raízes, mas há evidências de provocar efeitos de estresse ou fitotoxidez. O trabalho foi constituído de três estudos, inicialmente avaliando o efeito de doses de AIB (0, 3.000, 6.000 e 9.000 mg L⁻¹) na estaquia de cinco genótipos, denominados de G4, G15, G25, G28 e G29. No segundo estudo, com os mesmos genótipos e doses de AIB, foram investigadas, nos primeiros 18 dias de estaquia, possíveis alterações na atividade da peroxidase, níveis de açúcares e de proteínas solúveis totais, nas hastes e folhas das estacas. No terceiro estudo foi acompanhado o desenvolvimento após o plantio de mudas obtidas por estaquia de 13 genótipos de erva-mate *Cambona 4* e mudas de semente. Os resultados revelaram que o uso do AIB, dependendo do genótipo, reduz a retenção foliar, a sobrevivência e o enraizamento, principalmente em doses mais elevadas, e a retenção foliar é fundamental para a sobrevivência e o enraizamento. O período crítico,

¹ Bióloga, doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAgro), Área de Concentração em Produção Vegetal, da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF).

dependendo do genótipo e o uso ou não de AIB, se estende até a quarta ou quinta semana após a estaquia. Variações nos níveis de proteínas, de açúcares e, principalmente, da atividade da peroxidase, confirmam a hipótese de que as estacas se submetem a um período inicial de elevado estresse. Dependendo do genótipo e dose, o uso do AIB pode propiciar maior grau de estresse ou efeito fitotóxico. Os genótipos G4 e G28, com até 77,8% e 66,7% de enraizamento, respectivamente, apresentaram potencial para serem recomendados como matrizes. No campo, o desenvolvimento das mudas obtidas por estaquia variou entre genótipos de *Cambona 4*, e o crescimento dos melhores foi similar ou superior às mudas de sementes, demonstrando a viabilidade técnica da clonagem na produção de mudas.

Palavras-chave: Açúcares, *Ilex paraguariensis* St. Hil, propagação vegetativa, AIB, peroxidase, proteínas.

**PROPAGATION BY YERBA MATE OF CUTTING:
ROOTING, REACTIONS BIOCHEMICAL INDOLBUTYRIC
ACID (IBA) AND DEVELOPMENT OF CHANGES AFTER
PLANTING**

ABSTRACT –The propagation by cuttings is one of the alternatives to obtain uniform and productive herbal. The indolbutyric acid (IBA) has shown to be effective in inducing roots, but there is evidence to cause stress effects or toxicity symptoms. The work consisted of three studies, initially evaluating the effect of IBA doses (0, 3,000, 6,000 and 9,000 mg L⁻¹) in the cutting of five genotypes, called G4, G15,

G25, G28 and G29. In the second study, with the same genotypes and doses of IBA, they were investigated in the first 18 days of cutting, possible changes in peroxidase activity, sugar levels and total soluble protein, the stems and leaves of the cuttings. In the third study we followed in the development after planting seedlings from cuttings of 13 yerba mate genotypes *Cambona 4* seed and seedlings. The results showed that the use of IBA, depending on the genotype, reduces the leaf retention, survival and rooting, especially at higher doses, and leaf retention is essential for survival and rooting. The critical period, depending on the genotype and the use or not of IBA, extends to the fourth or fifth week after cutting. Changes in the levels of proteins, sugars, and especially of peroxidase activity, confirming the hypothesis that the cuttings are subjected to an initial period of high stress. Depending on the genotype and dose, the use of IBA can provide a higher degree of stress or phytotoxic effect. The G4 genotypes and G28, with up to 77.8% and 66.7% of rooting, respectively, had the potential to be recommended as arrays. In the field, the development of seedlings from cuttings ranged between genotypes *Cambona 4*, and the growth of the best was similar or superior to the seeds of plants, demonstrating the technical feasibility of cloning in the production of seedlings.

Key words: Sugars, *Ilex paraguariensis* St. Hil, vegetative propagation, peroxidase, proteins.

1 INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) é uma das espécies arbóreas nativas mais importantes economicamente para a Região Sul do Brasil, produzida, basicamente, em pequenas propriedades. A exploração da erva-mate se dá por extrativismo, a partir de plantas nativas conservadas nas propriedades rurais, ou em ervais implantados, cujo produto é comercialmente denominado de “erva-mate cultivada”.

O plantio de ervais decorreu do aumento do consumo a partir da década de 70. Os cultivos são implantados com mudas produzidas por sementes, muitas vezes obtidas de matrizes não selecionadas agronomicamente, acarretando em heterogeneidade nos ervais, comprometendo o potencial produtivo e a qualidade da matéria-prima. Além disso, a erva-mate é uma espécie dioica, ou seja, as plantas possuem apenas flores femininas ou masculinas, exigindo a polinização cruzada. Conseqüentemente, a combinação e segregação genética resultam em variabilidade, observada claramente nos ervais implantados no que se refere às características fenotípicas das plantas, potencial produtivo, vigor de crescimento, qualidade química das folhas produzidas, dentre outros aspectos (HETTWER, 2013). Donaduzzi et al. (2000) corroboraram com tais afirmações, ressaltando que variações observadas nos teores de cafeína, polifenóis totais e de taninos em amostras de erva-mate podem estar correlacionados, em parte, ao material genético, ressaltando que é uma espécie polimorfa e apresenta vários morfotipos.

Com o intuito de fixar características desejadas, a propagação por estaquia mostra-se como uma técnica promissora, mas para isso a escolha das plantas matrizes deve ser criteriosa, observando aspectos produtivos e fitossanitários, qualitativos da matéria-prima, o potencial de enraizamento pela técnica e o desenvolvimento das mudas no campo.

Na estaquia da erva-mate, o emprego do regulador de crescimento ácido indolbutírico (AIB) tem demonstrado, para vários materiais genéticos, ser eficiente na indução de raízes (QUADROS, 2009; SANTOS, 2009; ZERBIELLI et al., 2011; HETTWER, 2013). Contudo, alguns autores como Santos (2011) e Hettwer (2013) constataram, para alguns genótipos estudados, um possível efeito fitotóxico do AIB, reduzindo a sobrevivência e retenção das folhas mantidas nas estacas. Como estas duas variáveis são determinantes para obter um elevado potencial de enraizamento, se faz necessário o estudo de possíveis consequências bioquímicas nas estacas da ação do AIB.

Viabilizada a produção de mudas por estaquia, persistem dúvidas entre produtores e pesquisadores quanto ao desenvolvimento das mesmas no campo. Os produtores rurais e viveiristas somente devem aderir ao emprego da estaquia se os crescimentos das mudas forem semelhantes ou melhores que as originadas por sementes.

Considerando os aspectos citados, este trabalho foi proposto a ser constituído por três capítulos. No Capítulo I foram conduzidos estudos testando genótipos de erva-mate e doses de AIB, avaliando a sobrevivência, a retenção foliar e o enraizamento. Para elucidar alguns aspectos relacionados aos resultados obtidos, no

Capítulo II foram estudadas possíveis alterações dos teores de peroxidase nas estacas, considerada uma enzima indicadora de estresse, de açúcares solúveis totais e de proteínas solúveis. Por fim, no Capítulo III, mudas obtidas por estaquia de genótipos de *Cambona 4*, considerada a primeira progênie bi-parental brasileira, estudada em trabalho anterior por Hettwer (2013), constituíram um banco de germoplasma para avaliar o desenvolvimento após o plantio, comparativamente com mudas produzidas a partir de sementes.

Portanto, o objetivo do presente trabalho é estudar a propagação por estacas como técnica de produção de mudas, e de resgate e manutenção de genótipos superiores de erva-mate *Cambona 4*, demonstrando, a partir da seleção de matrizes de erva-mate com características desejáveis de produção e qualidade de matéria-prima, elucidando a ação do AIB no metabolismo das estacas, através de estudo de reações bioquímicas, como a determinação da dose mais adequada do fitorregulador, além de gerar informações sobre o desenvolvimento das plantas no campo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico da erva-mate

A erva-mate foi utilizada pelos indígenas há muito tempo, os primeiros registros datam de 1554, pelos índios Guaranis e do Guaíra (SCHUCHMANN, 2002), que habitavam a região das bacias dos rios Paraná, Paraguai e Uruguai, correspondendo ao território sob propriedade do Paraguai, Argentina, Mato Grosso do Sul e Paraná. Todavia, há autores como Becker (1995), que argumentam que o produto também era usado pelos índios Kaingangues, que ainda existem na região sul da América.

Por suas propriedades nutritivas e medicinais, o produto despertou grande admiração tanto dos povos nativos, como dos colonizadores europeus que alcançaram o Brasil no século XVI (SCHUCHMANN, 2002). A erva-mate era conhecida entre os indígenas pelo nome de “Caa”, e a bebida como “Caa-i”, que significa água de erva saborosa, utilizada pelo pajé da tribo para rituais de magia, sendo fornecida também para os índios como bebida estimulante (DA CROCE & FLOSS, 1999).

A evolução das técnicas de cultivo da erva-mate foi interrompida com a expulsão dos jesuítas da América do Sul, em 1767, os quais foram os primeiros a orientar os índios e a realizar os plantios de erva-mate (BERKAI & BRAGA, 2000). No início do século XIX, o naturalista francês August Saint-Hilaire empreendeu várias viagens ao Brasil, e em 1820 esteve no Rio Grande do Sul, Curitiba e litoral paranaense. Ao retornar à França, em 1823,

apresentou um relatório descritivo dos ervais sulinos brasileiros à Academia de Ciências do Instituto da França, onde propôs a designação de *Ilex paraguariensis* ou *I. mate* (DANIEL, 2009).

Durante o século XIX, o comércio da erva-mate se manteve ativo e foi generalizadamente utilizado na região onde hoje é o Peru e o Equador, embora após a independência das colônias espanholas, e a adoção do livre comércio, o chá inglês tenha começado a ser introduzido nessas regiões. O resultando dessa expansão comercial foi a perda gradual do mercado da erva-mate nos Andes (DANIEL, 2009).

2.2 Importância socioeconômica, ambiental e medicinal da erva-mate.

A exploração da erva-mate foi, por muito tempo, realizada exclusivamente por extrativismo, mas foi perdendo espaço devido à exploração madeireira, principalmente na primeira metade do século passado, com auge na década de 1970, fato que levou à destruição de muitos ervais nativos. Na Região Sul do Brasil, esse processo ocorreu em concomitância ao avanço das áreas de lavoura, especialmente para a produção de soja, trigo e milho (LUZ, 2011), e supressão das florestas nativas de araucária, onde a erva-mate constituía parte do sub-bosque. Houve, assim, uma expressiva diminuição na oferta do produto, o que acarretou a alta dos preços. Com o aumento do consumo interno e a boa expectativa de negócios foi fomentada a realização de plantios homogêneos, recompondo fontes de matéria prima (ANDRADE 2002 ; LUZ, 2011). Daniel (2009) afirma que o

Rio Grande do Sul foi, talvez, o estado que mais devastou áreas com ervais nativos para a implantação das culturas de grãos, seguido do Mato Grosso do Sul.

Da Croce & Floss (1999) relatam que, na década de 90, iniciou o plantio da erva-mate consorciada com outras espécies florestais, ou até mesmo com culturas anuais, visando qualidade da matéria-prima e o aumento do rendimento econômico. Além disto, a diferenciação nos valores da matéria-prima pagos aos produtores tem sido observada, consoante ao sistema de cultivo utilizado, isto é, a pleno sol ou em ambiente sombreado.

A erva-mate é a espécie símbolo do Rio Grande do Sul, de acordo com a lei 7.439 de 1980, pela importância econômica e cultural (ASSEMBLÉIA, 2011). De acordo com Vidor et al. (2002), pelo fato da erva-mate sofrer pouco com as oscilações do clima, ao compará-la com os cultivos agrícolas em geral, tornou-se uma espécie de importância para a fixação do homem no campo, gerando fonte de renda.

O Brasil é o segundo maior produtor mundial, depois da Argentina, com uma produção, em 2012, de 513.256 t de erva-mate verde, numa área de 76.172 hectares, resultando numa produtividade média de 6.738 kg/ha. O Rio Grande do Sul é o estado maior produtor, com 260.866 t, seguido do Paraná, com 180.853 t, Santa Catarina, com 60.064 t, e Mato Grosso do Sul, com 2.473 t (IBGE-PAM, 2013).

O Rio Grande do Sul possui cinco polos ervateiros, a saber, os polos Planalto Missões, Alto Uruguai, Nordeste Gaúcho, Vale e Alto Taquari, os quais são responsáveis por cerca de 60% da produção industrial nacional de erva-mate (OLIVEIRA & WAQUIL,

2015). Em relação ao valor bruto de produção dos produtos florestais no estado, a erva-mate representou 4%, ou seja, R\$ 127,5 milhões, que equivale aproximadamente a 43% dos produtos não madeiráveis produzidos no país (UFRGS, 2013). Os maiores municípios produtores, em 2011, foram Ilópolis, com 53.100 t, e Arvorezinha, com 50.000 t, seguidos dos municípios de Palmeira das Missões, Venâncio Aires e Fontoura Xavier, com 18.200, 14.125 e 11.760, respectivamente (IBGE, 2013).

O Uruguai é o maior importador, absorvendo cerca de 80% da produção brasileira (NEUMANN, 2000). O consumo per capita de erva-mate no Brasil, estimado em 1 a, 2 kg por ano, é baixo se confrontado com os números demandados pela Argentina e Uruguai, onde a população consome 5 e 7 kg por ano de erva-mate seca e para a produção de chás, respectivamente (ABITANTE, 2007)

A cadeia produtiva da erva-mate está sob influência do ambiente institucional, formado pelo conjunto de leis que regulamentam a produção e comercialização do produto, as regras e costumes que condicionam as preferências dos consumidores, delimitam a conduta das empresas atuantes no setor. Organizações como o Sindicato da Indústria do Mate do Estado do Rio Grande do Sul (Sindimate), A associação de produtores de Erva-mate (Apromate), Associação dos Produtores de Erva-mate do Alto Uruguai (Aspemate), O Instituto Brasileiro de Erva-Mate (Ibramate), A Associação Riograndense de Empreendimentos de Assistência Técnica e Extensão Rural (Emater/RS) e Universidades da região, contribuem para o desenvolvimento de pesquisas e campanhas de promoção do produto gaúcho.

Ambientalmente a erva-mate é uma árvore ornamental que pode ser utilizada no paisagismo, possuindo frutos muito consumidos por pássaros, indicada para o plantio em áreas degradadas e na recomposição vegetal (LORENZI, 2000). Baggio et al. (2013) acrescentam que a cultura da erva-mate, por si só, aumenta a infiltração das chuvas, pois forma uma barreira vegetal que reduz o escoamento superficial (incluindo os resíduos da exploração anual), e seu sistema de raízes é mais profundo que o de culturas de grãos ou pastagens. O consórcio com árvores de raízes ainda mais profundas acentua essa função. Ademais, a própria erva-mate é beneficiada pelo microclima propiciado pela arborização.

O sistema agroflorestal de cultivo da erva-mate, consorciada com outras espécies florestais, ambientalmente, é o que mais se aproxima das condições naturais de ocorrência da erva-mate. Pelo estudo realizado pela Embrapa Florestas e Apromate, sistemas agroflorestais com a *Cambona 4* apresentaram como serviço ambiental uma significativa capacidade de sequestro de carbono, pela biomassa produzida (CORRÊA et al., 2009).

Em relação à importância medicinal da erva-mate, diversos trabalhos ressaltam a complexidade da composição química da erva-mate, pois a mesma apresenta diversas classes, tais como, alcaloides (principalmente cafeína, teobromina, teofilina), álcoois, cetonas, fenóis, ácidos graxos, saponinas, metilxantinas, vitaminas (A, B1, B2, C e E), minerais, além de celulose, dextrina, sacarina e gomas (KASPARY & VALDUGA, 2008).

Lorenzi (2000) afirma que a espécie é muito utilizada na medicina popular e tradicional, reduzindo a fadiga muscular e mental,

melhora o apetite e ajuda na digestão. Possui atividade antioxidante, ação estimulante do sistema nervoso central e efeito vasodilatador. A cafeína presente na erva-mate exerce um efeito conhecido sobre o sistema nervoso central, estimulando o vigor mental. De acordo com dados divulgados por Pondé (1996), pesquisas do Instituto Pasteur de Paris atribuem ao mate um papel importantíssimo no processo de regeneração celular.

As análises dos compostos presentes conferem diversas propriedades de valor terapêutico e a torna recomendável como anti-inflamatório, antirreumático, estimulante e lipolítico, além de ser indicada em casos de astenia ocasional e ser coadjuvante no tratamento de sobrepeso (BROMATOS, 2000).

2.3 Taxonomia e descrição botânica

De acordo com o Sistema de Classificação de APG II, a taxonomia de *Ilex paraguariensis* obedece a seguinte hierarquia: Divisão: Magnoliophyta, classe: Magnoliopsida; ordem: Celastrales e família: Aquifoliaceae (CARVALHO, 2003). A espécie é conhecida popularmente como erva-mate, caá, caáguaçu, carvalho-branco, caúna, congoín, congonha, erva-congonha, erveira, pau-de-erva, congonha-grande, congonha, congonhinha, erva, erva-periquita, erva-mate-peluda, erva-mate-de-talo-branco, erva-mate-de-talo-roxo, erva verdadeira, mate, orelha-de-burro, ka'a e yerba-mate (EDWIN & REITZ, 1967; LORENZI, 2000; CARVALHO, 2003).

A planta mede, em geral, de 10 a 15 metros de altura. Na floresta, pode atingir até 25 m de altura, e em cultivo de 3 a 5 m. As

folhas são alternadas, simples, geralmente estipuladas, glabras, de 5 a 10 cm de comprimento e 3 a 5 cm de largura, variando de subcoriáceas a coriáceas, de formato obovado até largamente obovado, e ligeiramente obtusas no vértice ou mesmo arredondadas. A coloração é verde escura na face superior e verde-clara na inferior. As bordas são levemente serreadas-crenadas (CARVALHO 1994; DA CROCE & FLOSS, 1999).

A espécie *Ilex paraguariensis* é dioica, apresentando flores díclinas por aborto de um dos sexos. A polinização é entomófila (FERREIRA et al., 1983). As flores são pequenas, brancas e pouco vistosas. As inflorescências femininas apresentam-se em pequenos fascículos pedicelados, com 3 a 5 flores, raramente com 6, e pedúnculo curto; as masculinas possuem de 3 a 5 pedicelos e flores, e às vezes com pedúnculo longo. As flores são emitidas sobre o lenho velho, na axila das folhas. O fruto pode ser chamado de ovoide-globular, ou ainda drupa-globosa, pequena, medindo entre 4 e 8 mm de diâmetro, tetralocular. A coloração é verde quando jovens, tornando-se vermelho-arroxeadado na maturidade, com uma polpa mucilaginosa. Mais de 90% dos frutos apresentam quatro sementes, de tegumento áspero e duro (DA CROCE & FLOSS, 1999).

2.4 Condições edafoclimáticas

A erva-mate encontra-se distribuída naturalmente em uma área de aproximadamente 540.000 km², entre as latitudes 22° e 30° S, e longitudes 48° 30' e 56° 10' W, em altitudes que variam entre 500 e 1.500 m acima do nível do mar. No Brasil, corresponde a 450.000

km², representando cerca de 5% do território nacional, e na América do Sul, corresponde a 3% da área. Abrangem, no Brasil, os estados do Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro (ROTTA & OLIVEIRA, 2010).

É uma espécie florestal ombrófila, que ocorre originalmente (nativa) em associações mais evoluídas de pinheirais de *Araucaria angustifolia* (COELHO et al., 2000). É uma planta pertencente ao grupo sucessional clímax, esciófita, ou seja, aceita sombreamento em qualquer etapa de seu desenvolvimento, tolerando mais luz na fase adulta, e seletiva higrófila (CARVALHO, 2003).

Na distribuição da erva-mate, dois tipos climáticos são citados, segundo Koeppen: Cfb (clima temperado) e Cfa (clima subtropical), com chuvas regulares e distribuídas ao longo do ano, e precipitação média em torno de 1500 a 2000 mm. As temperaturas médias anuais variam de 15 a 18 °C na região dos pinhais, e de 17 a 21 °C em Misiones, Argentina. As geadas são frequentes ou pouco frequentes, dependendo da altitude, que varia de 500 a 1500 m sobre o nível do mar (MEDRADO & STURION, 2005).

Estudos conduzidos por Mazuchowski et al. (2003) e Coelho et al. (2000) destacam que ervais expostos aos elevados níveis de luminosidade sofrem alterações nos processos metabólicos, tornando-se mais suscetíveis a doenças e ao ataque de pragas, além de gerarem produto com qualidades organolépticas inferiores (COELHO et al., 2000; RACHWALL et al., 2000).

De acordo com Espindola Junior (2006), os plantios de erva-mate podem apresentar-se sob várias condições: em áreas onde está ausente a vegetação arbustiva e há predomínio do sol pleno; em

áreas de capoeira ou de mata pouco densa, com ambiente de meia-sombra; ou em áreas de bosque e de adensamento de espécies, onde há maior sombreamento. Para cada uma dessas situações a luminosidade consiste na principal variável no desenvolvimento da espécie, que está diretamente relacionado à sua capacidade traumática e adaptativa, sendo a traumática largamente explorada para a produção de folhas. Já a adaptativa, pouco relatada na literatura para diferentes condições de ambiente, é de fundamental importância para espécies tolerantes, pois determinam a forma como se desenvolvem em resposta às condições de ambiente.

Em um estudo comparativo de sistema agroflorestal de erva-mate e pinheiro brasileiro, com um sistema de monocultivo de erva-mate, foram constatadas diferenças nas temperaturas máximas e mínimas absolutas, aliadas à amplitude de variação desses parâmetros. A radiação solar foi o parâmetro que exerceu a maior influência na área foliar e na produção de fitomassa de erva-mate. Os efeitos microclimáticos influenciaram o crescimento das plantas de erva-mate, independentemente do estágio de crescimento (VIEIRA et al., 2003).

A espécie ocorre naturalmente em solos de baixa fertilidade, normalmente apresentam baixos teores de cátions trocáveis, altos teores de alumínio e pH baixo (CARVALHO, 2003). A textura dos solos na região de ocorrência é muito variável, preferindo os solos de textura média, entre 15% e 35% de argila, a argilosa, acima de 35%, que mostram equilíbrio de areia, silte e argila (AMAZÔNIA, 2008). A cultura não suporta solos compactados, pedregosos ou encharcados, uma vez que cerca de 80% do seu sistema

radicular se concentra na camada superior do solo, até 45 cm de profundidade. Além disso, a cultura requer solos ricos em nitrogênio, potássio, ferro e fósforo (MEDRADO & STURION, 2005).

Em termos comparativos, os ervais nativos ocorrem em solo de mata com propriedades físicas e biológicas diferentes dos ervais cultivados em solos agrícolas. Os ervais nativos normalmente estão estabelecidos em solos ácidos, com teores altos de alumínio trocável e baixos de fósforo disponível. Os ervais instalados estão sobre solos que normalmente já foram calcariados e cultivados com culturas anuais, apresentando melhores condições de fertilidade (CHRISTIN, 1987).

2.5 Estaquia

A estaquia é um método de propagação vegetativa em que segmentos destacados de uma planta, sob condições adequadas, emitem raízes e originam uma nova planta, com características idênticas à planta que lhe deu origem (PASQUAL et al., 2001), o que não se consegue com mudas originadas por sementes, que podem apresentar, também, baixa germinação devido à imaturidade do embrião, como na erva-mate, tornando a estaquia uma alternativa para a propagação da espécie (LORENZI & MATOS, 2002).

Conforme Fachinello et al. (2005), a desdiferenciação, processo pelo qual as células de um tecido já diferenciado retornam à atividade meristemática e originam um novo ponto de crescimento, e a totipotência, que é a capacidade de uma célula originar um novo indivíduo, uma vez que contém toda a informação genética necessária

para reconstituir todas as partes da planta e suas funções, são princípios básicos no processo de estaquia.

A seleção de árvores para a obtenção de estacas é fundamental, considerando que as plantas resultantes apresentam as mesmas características da planta-mãe. A seleção deve ser criteriosa e levar em conta, principalmente, a produtividade individual de biomassa foliar, a resistência a pragas e doenças, e a alta porcentagem de enraizamento das estacas (DANIEL, 2009).

Para Grossi et al. (2007), a propagação vegetativa comercial da erva-mate por estaquia tem sido limitada por uma série de fatores, como a falta de métodos eficientes de rejuvenescimento de material adulto e de técnicas de manejo do ambiente de propagação, além da dificuldade no manejo da nutrição e transplante das estacas após enraizadas.

A formação de raízes adventícias deve-se à interação de fatores existentes nos tecidos e à translocação de substâncias das folhas e gemas, como os reguladores de crescimento e outros compostos, alguns parcialmente conhecidos. A formação de raízes é dividida em duas fases: a) de iniciação, caracterizada pela divisão celular; e b) de diferenciação das células em primórdios radiciais, que resulta no crescimento das raízes (FACHINELLO et al., 2005).

2.5.1 Fatores que influenciam o enraizamento

Dentre os fatores internos de maior importância para o enraizamento estão o balanço hormonal da planta na época da coleta

das estacas, a condição fisiológica e a idade da planta matriz, o tipo de estaca (lenhosa, semilenhosa, herbácea; apical, mediana e basal) e a oxidação de substâncias (ASSIS et al., 2004).

As estacas possuem certa quantidade endógena de fitohormônios promotores ou inibidores de enraizamento, mas é necessário que haja um balanceamento adequado entre auxinas, giberelinas, citocininas e cofatores para que haja enraizamento. Desse modo, o fornecimento de auxina exógena pode promover alteração hormonal, favorecendo ou não o enraizamento (RAMOS et al., 2003). Além dos fitohormônios, outras substâncias de ocorrência natural, denominadas cofatores de enraizamento, atuam sinergicamente com as auxinas (HARTMANN et al., 2002).

Os cofatores de enraizamento atuam sinergicamente com as auxinas. Esses cofatores, assim como as auxinas, são sintetizados em gemas e folhas jovens e, em maior quantidade, em estacas provenientes de plantas jovens, transportados pelo floema a partir dos locais de síntese. Caracteriza-se, assim, a importância para muitas espécies da manutenção de folhas e gemas em atividade vegetativa, atuando como um laboratório de produção de reguladores de crescimento, nutrientes e carboidratos (FACHINELLO et al., 2005).

Zerbielli et al. (2011) e Hettwer (2013) verificaram que a mortalidade das estacas de erva-mate apresenta forte relação com a queda de folhas, possivelmente pela redução na disponibilidade fotoassimilados, e possivelmente também auxinas e cofatores, antes produzidos pelas mesmas.

A condição fisiológica da planta-matriz pode afetar a qualidade da estaca, ou seja, o enraizamento, pois corresponde ao

conjunto das características internas, tais como o conteúdo de água, de reservas e nutrientes. Estacas retiradas de uma planta matriz em déficit hídrico tendem a enraizar menos (FACHINELLO et al., 2005).

A passagem da fase juvenil para a adulta pode alterar a capacidade de enraizamento de plantas de erva-mate (WENDLING & XAVIER, 2001), pois a perda da capacidade de formação de raízes é um dos efeitos da maturação (DIAZ-SALA et al., 1996), o que gera problemas, pois muitas vezes as características desejadas de uma planta matriz são expressas depois da maturidade (HARTMANN et al., 2002).

Conforme Hartmann et al. (2002), brotos provenientes de gemas laterais de base possuem maior juvenilidade dos tecidos e são mais vigorosos, fatores que melhoram a promoção do enraizamento. Além disso, plantas podadas fornecem grandes quantidades de material juvenil para a produção de mudas. O rejuvenescimento também pode ser obtido, entre outros métodos, pela decepa da planta matriz, onde os ramos obtidos terão maior capacidade de enraizamento, tornando possível a propagação vegetativa de plantas difíceis de enraizar.

Koehler et al. (2009) obtiveram melhores resultados de enraizamento (65,5%), número e comprimento de raízes em estacas caulinares de erva-mate coletadas de material rejuvenescido. Iritani (1981), por sua vez, verificou mortalidade de estacas alcançando 90%, quando coletadas de plantas matrizes de erva-mate com 40 anos de idade.

Segundo Fachinello et al. (2005), para espécies de difícil enraizamento, estacas mais herbáceas mostram maior capacidade de

enraizamento do que aquelas lenhosas. Por sua vez, em algumas espécies, o tamanho e o diâmetro das estacas podem influenciar o enraizamento, até mesmo de espécies fáceis de enraizar. Nesse caso, os melhores resultados de enraizamento em estacas de maior diâmetro, geralmente, estão associados às maiores quantidades de reservas.

Conforme Rowe et al. (2002), reservas mais abundantes de carboidratos promovem maior porcentagem de enraizamento e sobrevivência das estacas. Assim, a importância dos carboidratos para formação de raízes é devido ao fato de que a auxina requer fonte de carbono para a biossíntese de ácidos nucléicos e proteínas, levando à necessidade de energia e carbono para a formação das raízes (FACHINELLO et al., 2005).

Kricum (1995), propagando vegetativamente plantas adultas de erva-mate, obteve 30,1% de enraizamento de ramos lenhosos e 52% de ramos herbáceos, permitindo definir com clareza que o uso de materiais juvenis do ano proporciona melhores condições para a formação de raízes.

Quanto à influência das gemas, Hartmann et al. (2002) afirmam que exercem efeito estimulador no enraizamento, no período de intensa atividade vegetativa, mas estacas com gemas floríferas, ou coletadas durante o período de floração, apresentam baixos índices de enraizamento, demonstrando um antagonismo entre a regeneração vegetativa e a floração.

Já a aplicação de fitorreguladores, a temperatura, a umidade, a luminosidade e o substrato são os fatores externos mais importantes no processo de estaquia (FACHINELLO et al., 2005).

2.5.1.1 Fitohormônios e fitorreguladores de crescimento

O ácido-indol-3-acético (AIA) é a principal auxina de ocorrência natural, sintetizada a partir do triptofano. Os locais de biossíntese são primeiramente nos primórdios foliares e folhas jovens. O transporte é de célula a célula (polar). Os efeitos do AIA são dominância apical, diferenciação dos tecidos vasculares, promoção da atividade cambial, indução de raízes adventícias em estacas, inibição da abscisão de folhas e frutos, estimulação da síntese do etileno, inibição ou promoção da floração, estimulação do desenvolvimento do fruto. O AIA / ou auxinas têm função na ativação de divisão celular, indução do crescimento celular por alongamento e expansão, indução da diferenciação celular, e diferenciação de tecidos vasculares (RAVEN et al., 2001). Em relação à divisão celular, a auxina aumenta a atividade de CDK/a (quinase a dependente de ciclina), ativada por ciclina D3 na transição de G1 para S. Ciclina D3 (CYC/D3) é ativada por citocininas (Figura 1) (TAIZ & ZEIGER., 2004; KERBAUY, 2008).

O movimento polar da auxina ocorre célula a célula, em vez de se valer dos plasmodesmos, ou seja, do simplasto celular. Assim, o AIA deixa a célula através da membrana plasmática de uma célula, difundindo-se para as paredes primárias próximas, e passando por movimento transmembrana destas para a célula imediatamente abaixo, através da membrana plasmática (TAIZ & ZEIGER, 2004).

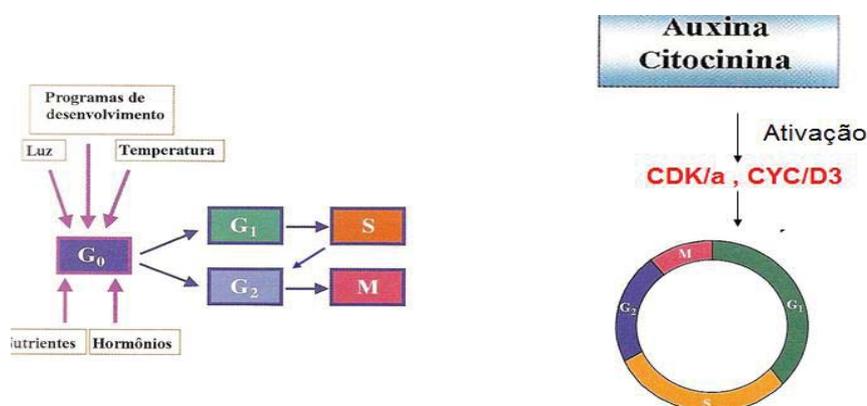


Figura 1 - Auxinas e citocininas na divisão celular. Fonte: (http://images.slideplayer.com.br/11/3171467/slides/slide_26.jpg).

A utilização de fitorreguladores no enraizamento é prática bastante difundida e, em muitas espécies, é o principal fator que viabiliza a produção de mudas por meio de estaquia (FACHINELLO et al., 2005).

As auxinas sintéticas mais utilizadas são o ácido indolbutírico (AIB) e o ácido naftalenoacético (ANA). O AIB é considerado um dos melhores estimulantes do enraizamento, pois não é destruído pelo sistema AIA-oxidase, tem boa estabilidade à luz, com ação localizada, e não é tóxico, enquanto o ANA é um composto mais tóxico que o AIB, tendo que ser utilizado em concentrações menores, é totalmente estável à luz e também não é destruído pelo sistema AIA-oxidase (HARTMANN et al., 2002).

Pires & Biasi (2003) corroboram afirmando que o ácido indolbutírico (AIB) é, provavelmente, o melhor regulador vegetal de uso geral, porque não é tóxico para a maioria das espécies, mesmo em altas concentrações, e é bastante efetivo para um grande número de

espécies. Hartmann et al. (2002) destacam que a aplicação exógena de AIB sintético pode simplesmente elevar a sua condição interna, convertendo-se parcialmente em AIA no tecido vegetal, ou apresentar efeito sinérgico, modificando a ação ou a síntese do AIA, ou a sensibilidade dos tecidos ao AIA. Segundo Taiz & Zeiger (2004), a resposta da planta à auxina endógena ou aplicada pode variar com a natureza do tecido e com a concentração desse regulador de crescimento já presente no propágulo.

Vários autores, estudando a estaquia da erva-mate demonstraram diferença entre plantas quanto à capacidade de enraizamento e o efeito da aplicação de AIB (Tavares et al., 1992; Corrêa, 1995; Brondani et al., 2009; Zerbielli et al., 2011; Santos, 2011 e Hettwer, 2013).

O uso de reguladores de crescimento tem importância particular para a indução de raízes em propágulos de plantas de difícil enraizamento (MALAVASI, 1994), como é o caso da erva-mate, pois existe uma carência de estudos sobre a necessidade de aplicação de reguladores de crescimento (WENDLING, 2004). As concentrações a serem aplicadas podem variar em função da espécie, do genótipo e estado de maturação da planta doadora dos propágulos, tipo de estaca, condições ambientais, entre outros (XAVIER et al., 2009).

Plantas que não apresentam enraizamento com a aplicação de regulador vegetal são consideradas de difícil enraizamento, porque o fator limitante à formação de raízes não é a ausência de um hormônio, mas, provavelmente, a presença de um inibidor de enraizamento ou deficiência de algum composto ou nutriente necessário no processo (HARTMANN et al., 2002)

2.5.1.2 Mecanismos de ação

A percepção é a primeira fase do mecanismo de ação dos fitohormônios e fitorreguladores, embora não se tenha muito conhecimento de como a auxina é percebida, ou quais moléculas receptoras estão envolvidas em seu reconhecimento. No entanto, as células devem ser capazes de perceber diferenças de concentração e induzir ou inibir genes. Uma proteína que possui alta afinidade pela auxina já foi identificada, a qual foi caracterizada e clonada a partir de plantas de milho, denominada ABP1. Essa proteína não possui regiões hidrofóbicas típicas de proteínas de membrana, e provavelmente deve associar-se a uma outra proteína da membrana plasmática (proteína integral da membrana), propagando o sinal hormonal para o interior da célula (TAIZ & ZEIGER, 2004; KERBAUY, 2008)

A auxina, quando ligada à ABP1, induz uma mudança conformacional, ocorrendo a interação de auxina + proteína receptora com a proteína de membrana, a qual transmite o sinal da auxina para o interior da célula, acarretando, por exemplo, a hiperpolarização da membrana celular. É possível, também, que a própria ABP1, ligada à auxina, interaja diretamente com canais iônicos da membrana plasmática. A maior parte da ABP1 está localizada no retículo endoplasmático (RE), e não na membrana plasmática, aparecendo também no Complexo de Golgi (CG). As proteínas ABP1 localizadas no RE e CG, ao receberem a auxina, interagem com proteínas integrais de membranas dessas organelas, possivelmente causando a regulação da secreção de componentes de parede, que são os

polissacarídeos e as glicoproteínas, necessários à célula em expansão. Postula-se a existência de dois receptores: um com maior afinidade por auxina, que controlaria a expansão celular (ABP1), e um outro receptor (Rx) com menor afinidade por auxina, que controlaria a divisão celular (TAIZ & ZEIGER, 2004; KERBAUY, 2008; RAVEN et al., 2001).

Os caminhos de transdução de sinal da auxina são pouco conhecidos. Quando há interação com o receptor (Figura 2), o sinal hormonal deve ser conduzido dentro da célula, através de uma das várias vias alternativas, sendo a resposta final dependente de um caminho ou de um conjunto de várias rotas. Ao invés de se ter uma via simples e linear de transdução de sinal, as moléculas sinalizadoras formam redes complexas de rotas interconectadas. O Ca^{+2} parece ser um mensageiro secundário importante na transdução do sinal de quase todos os hormônios vegetais, porém a sua função na intermediação da ação da auxina ainda não foi determinada. Há fortes evidências experimentais de que a auxina aumenta o nível de Ca^{+2} livre intracelular. Além disso, a interação do Ca^{+2} com a proteína calmodulina está diretamente envolvida com a transdução de sinal da auxina no processo de alongamento celular. Da mesma forma, o potássio (K^{+}) está ligado à expansão das células mediada por auxina. Há evidências de que proteínas G (GTP-ases) da membrana plasmática participem da transdução de sinal da auxina (TAIZ & ZEIGER, 2004; KERBAUY, 2008; RAVEN et al, 2001).

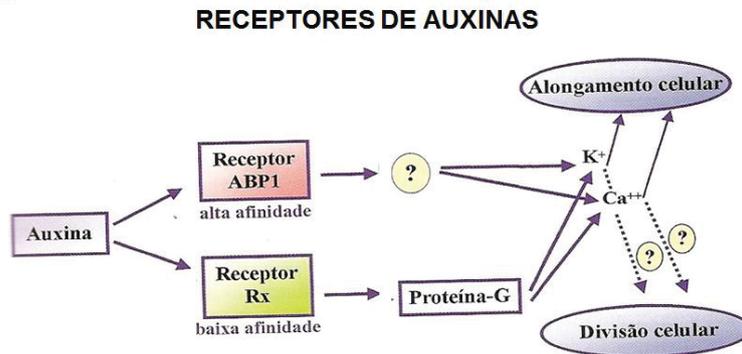


Figura 2 - Receptores de auxinas. Fonte: (http://images.slideplayer.com.br/11/3171467/slides/slide_26.jpg).

A expressão dos genes *aux/aia*, *saur* e *gh3* é induzida pela ativação de fatores de transcrição de proteínas já presentes na célula no momento da exposição à auxina. Devido a esse fator, todas as proteínas necessárias à indução da expressão dos genes de resposta primária devem estar presentes na célula, razão pela qual a expressão acontece em curto intervalo de tempo. Os genes de resposta primária possuem três funções principais: codificar proteínas que controlam a transcrição de genes de resposta secundária; codificar proteínas que atuam na comunicação intercelular; e codificar proteínas que atuam na adaptação ao estresse. Foram descritas três classes de genes de resposta primária: as famílias gênicas *aux/aia*, *saur* e *gh3*; os genes que codificam a sintase do ACC (enzima chave para a biossíntese do etileno); e genes que codificam glutathiona transferase (TAIZ & ZEIGER, 2004; KERBAUY, 2008; RAVEN et al, 2001).

2.6 Peroxidase

A peroxidase é uma importante enzima das plantas. Está envolvida em diversas reações, ligações de polissacarídeos, oxidação do (AIA), ligações de monômeros, lignificação, cicatrização de ferimentos, oxidação de fenóis, defesa contra patógenos, regulação da alongação de células e outras (CAMPOS & SILVEIRA, 2003). A atividade da peroxidase está intimamente relacionada ao nível de estresse da planta. Aumenta a atividade em resposta ao estresse, e um de seus principais papéis é promover a proteção da célula (SOARES et al., 2009).

A peroxidase e suas isoformas desempenham função de proteção contra o estresse oxidativo, onde catalisam a reação entre o agente redutor e o H_2O_2 . São enzimas que além de apresentarem ação antioxidante, desempenham importante papel na biossíntese da parede celular (PASSARDI et al., 2004), bem como na prevenção da oxidação de lipídeos da membrana (BROETTO et al., 1997).

Também apresentam relação com processos de crescimento e diferenciação celular, e mudanças morfo genéticas, em resposta ao estresse químico, físico ou biológico. Quando as plantas são expostas a esses fatores, o aumento da atividade da peroxidase pode ser fator determinante da capacidade de adaptação das plantas, podendo ser utilizada como um marcador bioquímico de estresse (PISA et al., 2003).

De acordo com Maciel et al. (2006), a peroxidase possui importância fisiológica no controle do crescimento, lignificação, biossíntese da parede celular e defesa contra patógenos, podendo,

ainda, causar mudanças indesejáveis no aroma, gosto, cor, textura e perda de nutrientes em alimentos.

A enzima está associada a reações de deterioração oxidativa em frutas, vegetais e produtos processados, que se dá pela reação $RH_2 + H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + R$. Na reação enzimática o peróxido de hidrogênio ou outro peróxido orgânico, como o peróxido de metila ou o etil hidrogênio é reduzido, enquanto que um doador de elétrons (AH) é oxidado. O doador de elétrons pode ser ascorbato, fenóis, aminas ou outros compostos orgânicos. Em muitos casos o produto da oxidação é colorido e serve como base para a determinação colorimétrica da atividade da peroxidase (ROBINSON, 1991).

Apesar do poder de reação, peróxido de hidrogênio é um metabólito natural em muitos organismos o qual, quando decomposto, resulta em oxigênio molecular e água (MATTOS et al., 2003). O H_2O_2 é gerado *in vivo* pela dismutação do ânion radical superóxido (O_2^-) por enzimas oxidases ou por *B*-oxidação de ácidos graxos. As mitocôndrias são importantes fontes de O_2^- e, como a presença deste ânion-radical pode causar sérios danos às células, elas são ricas em superóxido dismutase (SOD) que o converte em H_2O_2 , que uma vez gerado é parcialmente eliminado por catalase (CAT), glutathione peroxidase e peroxidases ligadas à tioredoxina (BARREIROS & DAVID, 2006).

Além da função principal na eliminação do H_2O_2 , as peroxidases também podem catalisar a formação de O_2^- e H_2O_2 através da complexa reação na qual o $NADH^+$ é oxidado, usando traços de H_2O_2 , produzido primeiramente pela partição não enzimática do

NADH. Em seguida, o radical NAD formado reduz O_2 a O_2^- , alguns dos quais catalisam em H_2O_2 e O_2 (BLOKHINA et al., 2003).

Na erva-mate podem ser encontradas enzimas oxidativas, que foram identificadas por Senglet, em 1928, como sendo a polifenoloxidase e a peroxidase. Estas enzimas estão associadas ao escurecimento das folhas e devem ser inativadas no beneficiamento da erva-mate (PENEK, 1955).

Há trabalhos que mencionam que as peroxidases podem afetar a formação de raízes, através de sua influência sobre as auxinas, ligninas e metabolismo das antocianinas, conforme salienta Haissig (1986). O possível efeito negativo do AIB foi apontado por Hausman (1993), em enraizamento *in vitro* de álamo, que verificou aumentos significativos na atividade da peroxidase na presença de auxina exógena. Zanol et al. (1997), ao estudar no escuro o uso do ácido indolbutírico no enraizamento *in vitro* de porta-enxerto de macieira e a atividade da peroxidase, verificaram que a ausência de AIB mostrou pequeno aumento na atividade da enzima, mas na presença os valores foram mais elevados.

2.7 Açúcares solúveis totais

Os açúcares solúveis totais são essenciais ao metabolismo, no desenvolvimento e em muitos processos fisiológicos (GIBSON, 2003) e metabólicos, tais como a fotossíntese, e a síntese e degradação de amido em plantas superiores (KOCH, 1996; KRAPP et al., 1993). Segundo Kraus et al. (2004), os carboidratos estão envolvidos no processo que antecede a divisão celular, possivelmente servindo

como fonte de energia. Para Chitarra & Chitarra (2005), os carboidratos são os componentes mais abundantes nos tecidos vegetais, funcionando como material de reserva energética ou como material estrutural dos tecidos.

As moléculas de açúcares solúveis podem exercer sinais e respostas de defesa que são úteis para as plantas, por controlar o nível de espécies reativas de oxigênio (EROs). Conseqüentemente, os açúcares solúveis podem regular a defesa contra vários estresses produtores de EROs (COUÉE et al., 2006).

Os principais carboidratos não estruturais acumulados em folhas e frutos das plantas são o amido, e os açúcares solúveis redutores e não redutores. Entre os açúcares redutores os principais são a glicose e a frutose, enquanto o principal açúcar não redutor é a sacarose, mobilizados nos processos de transporte na direção fonte/dreno. Os açúcares redutores e não redutores formam os açúcares solúveis totais (TAIZ & ZEIGER, 2004). Dos carboidratos, o amido e a sacarose são os principais produtos da fotossíntese (FLEXAS et al., 2006).

2.8 Proteínas solúveis

As proteínas são polímeros que determinam a forma e a estrutura da célula, desempenhando várias funções biológicas. O estresse causado por patógenos ou outros fatores podem diminuir o teor de proteínas solúveis totais, relacionado com a capacidade da planta para enfrentar um ambiente desfavorável ao seu desenvolvimento, variando de espécie para espécie (OLIVEIRA-

NETO, 2009). Assim sendo, considerando que a erva-mate é multiplicada por sementes, é possível se supor que uma condição estressante para um genótipo pode não ser para outro.

Em condições de estresse ocorre aumento da atividade de enzimas proteolíticas que quebram as proteínas de reservas das plantas, com conseqüente diminuição na síntese de proteínas (PISA & LIMA, 2003).

As proteínas correspondem a aproximadamente 30 % da massa seca total de uma planta típica (TAIZ & ZEIGER, 2004), englobando as estruturas citoesqueléticas (microtúbulos e microfilamentos), as proteínas de reserva, principalmente de sementes (globulinas e prolaminas), as enzimas como catalisador biológico e, em menor quantidade, os peptídeos e os aminoácidos. A síntese de proteínas ocorre no retículo endoplasmático rugoso (75 % do total), onde o RNA mensageiro permite a correta sequência de ligações peptídicas de aminoácidos (SPEMULLI, 2000). Os aminoácidos são compostos de esqueleto de carbono (derivado da glicólise, fotossíntese, via pentose ou ciclo do ácido cítrico) e estão associados ao nitrogênio inorgânico (H_3N^+), sendo o glutamato, a glutamina, o aspartato e a asparagina os principais compostos fornecedores do nitrogênio para os demais aminoácidos translocados pelo floema (CORIZZI & LAST, 2000).

Segundo Peres & Kerbauy (2004), pelo menos duas proteínas (invertase e transportadora de hexoses) têm participação direta nos drenos, as quais são necessárias para o descarregamento do floema, sendo que a enzima invertase favorece o fornecimento

contínuo de carboidratos e, ao mesmo tempo, a hexose é necessária para que os açúcares entrem nas células do tecido dreno.

Altos níveis de proteínas podem estar relacionados à grande taxa de divisão mitótica, pois a síntese de novas proteínas acarreta mudanças morfológicas e bioquímicas durante as fases de crescimento e desenvolvimento (GUTMANN et al. 1996; SILVEIRA et al. 2004).

Os poucos trabalhos sobre o assunto referem sobre o teor de proteína na massa seca da folha de erva-mate, após o início do processamento, ou seja, em massa seca. Burgsataller (1994) destacaram diferenças significativas nos teores de proteínas, mas que provavelmente houve uma desnaturação quando a erva-mate foi submetida ao processamento industrial, fato este decorrente das altas temperaturas empregadas durante o sapeco e, principalmente, a secagem do produto, como também afirmam Esmelindro et al. (2002). Os níveis de proteínas encontrados em amostras de erva-mate estudadas por Santos (2004) foram, em média, de 9,25%. Efinger et al. (2008) encontraram teores de 2,08% em folhas secas e Barbosa (2006) de 11,58% em um genótipo de erva-mate.

CAPITULO I

DOSES DE ÁCIDO INDOLBUTÍRICO NO ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE ERVA-MATE

Valesca Franciele Joana Mello Hettwer¹

RESUMO – O uso do ácido indolbutírico na propagação por estaquia da erva-mate tem apresentado resultados positivos, mas em alguns genótipos efeitos negativos sobre a retenção foliar e sobrevivência, quando em doses elevadas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes doses de AIB (0, 3.000, 6.000 e 9.000 mg L⁻¹) na multiplicação por estaquia de cinco genótipos de erva-mate, denominados de G4, G15, G25, G28 e G29. A estaquia foi realizada em 8 de dezembro, em substrato de casca de arroz carbonizada, tratadas as estacas por 10 segundos com AIB. Os resultados revelaram que o uso do AIB, dependendo do genótipo de erva-mate, reduz a retenção foliar, a sobrevivência e a porcentagem de enraizamento das estacas, principalmente em doses mais elevadas, e que a retenção foliar é fundamental para a sobrevivência e o enraizamento. O período crítico quanto à retenção foliar e sobrevivência, dependendo do genótipo e uso ou não de AIB, se estende até a quarta ou quinta semana após a estaquia. Os genótipos G4 e G28 apresentaram

¹Bióloga, doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAgro), Área de Concentração em Produção Vegetal, da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF).

potencial para serem recomendados como possíveis matrizes, ao adotar a técnica de clonagem por estaquia para a produção de mudas.

Palavras-chave: AIB, genótipos, *Ilex paraguariensis* St. Hil, mudas, propagação vegetativa.

ACID INDOLIL BUTIRIC DOSES ON ROOTING YERBA MATE CUTTING

ABSTRACT – The use of acid indol butiric in propagation by cuttings of yerba mate has shown positive results, but in some genotypes negative effects on leaf retention and survival in high doses. The objective of this study was to evaluate the effect of different doses of IBA (0, 3,000; 6,000 and 9,000 mg L⁻¹) in the multiplication by cuttings five yerba mate genotypes, called G4, G15, G25, G28 and G29. Rooting was held on December 8, carbonized rice husk, treated cuttings for 10 seconds with IBA. The results showed that the use of AIB, depending on the yerba mate genotype reduces leaf retention, survival and rooting of cuttings especially at higher doses, and the leaf retention is critical to the survival and rooting. The critical period of the leaf retention and survival, depending on the genotype and use or not of IBA, extends to the fourth or fifth week after cutting. The G4 and G28 genotypes showed potential to be recommended as possible matrices, by adopting the cuttings for cloning technique for the production of seedlings.

Key words: IBA, genotypes, seedlings, *Ilex paraguariensis* St. Hil.

1 INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) é uma espécie nativa de elevada importância econômica, ambiental, medicinal e cultural para a Região Sul do Brasil, com a produção concentrada nas pequenas propriedades. A propagação natural das plantas, ou utilizando mudas, tem sua origem nas sementes. Por tratar-se de uma espécie dioica, a formação de frutos nas plantas femininas exige que a polinização seja realizada por outras plantas, com flores masculinas, gerando grande variabilidade genética. As sementes, por sua vez, são frequentemente obtidas de matrizes não selecionadas agronomicamente, o que compromete o potencial produtivo e a qualidade da matéria-prima. Para implantar ervais com as características superiores idênticas às matrizes selecionadas, é necessário o emprego de uma técnica de propagação vegetativa, destacando-se a estaquia pelo seu rendimento e menor custo.

Estabelecer um protocolo de produção de mudas por estaquia, portanto, se faz necessário. Após a seleção das matrizes, torna-se necessário testá-las quanto ao potencial de enraizamento das estacas para viabilizar economicamente a adoção da técnica pelos viveiristas.

A capacidade de uma estaca emitir raízes é função de fatores endógenos e das condições ambientais proporcionadas ao enraizamento (FACHINELLO et al., 2005). Entre tais fatores, o uso de reguladores vegetais contribui para o enraizamento e formação de raízes de qualidade, destacando-se o grupo das auxinas, que inclui o ácido indolbutírico (COUTINHO et al., 2007).

O fornecimento de auxina exógena pode promover alteração hormonal, favorecendo ou não o enraizamento. As auxinas compõem o grupo de reguladores de crescimento que apresentam maior efeito na formação de raízes em estacas. Sabe-se que a auxina é sintetizada nas gemas apicais e folhas novas, de onde é translocada para a base da estaca por um mecanismo de transporte polar. Quando a auxina é aplicada, há um aumento da concentração na base da estaca e, caso os demais requerimentos fisiológicos sejam satisfeitos, pode haver formação de calo, resultante da ativação das células do câmbio e das raízes adventícias (FACHINELLO et al., 2005; HARTMANN et al., 2002).

As concentrações de auxinas a serem aplicadas podem variar em função da espécie, do genótipo, estado de maturação da planta doadora dos propágulos, tipo de estaca, condições ambientais, entre outros (XAVIER et al., 2009).

A maioria dos trabalhos em espécies florestais envolve a aplicação de reguladores de crescimento, em que estes propiciam efeitos tanto positivos como negativos ao processo de enraizamento adventício em propágulos vegetativos, sendo o ácido indolbutírico (AIB) o mais empregado nos estudos.

Em estacas de erva-mate, o emprego do ácido indolbutírico (AIB) tem demonstrado eficiência no enraizamento, no entanto, Santos (2009) e Hettwer (2013) relataram, para alguns genótipos, possível efeito fitotóxico, aumentando a queda de folhas mantidas nas estacas e a mortalidade.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de AIB na multiplicação por estaquia de genótipos de erva-mate.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no Setor de Horticultura da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF), em Passo Fundo, Rio Grande do Sul. A estrutura utilizada foi uma estufa agrícola medindo 10 m x 21 m, com pé direito de 2,5 m e cobertura de polietileno de baixa densidade (PEBD) com 150 μm de espessura, dotada de aditivo antiultravioleta. Para minimizar a insolação e a temperatura foi instalada uma tela (tipo sombrite) de 70 % de sombreamento, disposta horizontalmente a 2,5 m de altura na parte interna, e nas laterais. O sistema de irrigação, do tipo intermitente, constou de três linhas distanciadas de 1,5 m, com bicos nebulizadores dispostos a cada 1 m. O sistema de nebulização foi acionado automaticamente a cada 8 minutos, com duração do molhamento de 10 segundos.

Foram utilizados genótipos de erva-mate localizados em um erval comercial no município de Mato Castelhano, RS. Com base nos resultados obtidos de 30 genótipos estudados por Tres (2016), utilizando 8.000 mg L^{-1} de AIB, foram selecionados cinco desses genótipos, sendo três que haviam apresentado satisfatório enraizamento, entre 75% e 85% (G4, G25 e G28), e dois com baixo enraizamento, de 12,5% (G15 e G29). A estaquia foi realizada em 08 de dezembro de 2015, tratadas as estacas com 0, 3.000, 6.000 e 9.000

mg L⁻¹ de AIB, mediante a imersão da base (3-4 cm) por 10 segundos na solução. O delineamento experimental foi em três blocos casualizados, arranjados no esquema fatorial 5 x 4, com 9 estacas por parcela.

Após coletadas na planta as estacas foram umedecidas e acondicionadas em sacos de polietileno, conservando em caixas de isopor com gelo até a transferência para o Laboratório de Virologia Vegetal da FAMV-UPF. As estacas foram padronizadas com 10 cm de comprimento, cortando transversalmente o ápice e em bisel a base, mantendo duas folhas reduzidas pela metade. A desinfestação foi realizada mediante imersão por 5 minutos em solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, e posteriormente lavadas em água corrente. No preparo das soluções de AIB, o produto puro da marca Sigma foi diluído em 50% de álcool etílico 70 °GL, completando o volume com água destilada.

As estacas, antes do tratamento com AIB, foram submetidas à retirada bilateral da casca na base (2 cm), para exposição do câmbio e melhor absorção do AIB. A estaquia foi realizada em tubetes plásticos de 46,5 mm x 46,5 mm x 140 mm (140 cm³), acondicionados em bandejas plásticas de 96 tubetes, contendo como substrato casca de arroz carbonizada. As estacas foram plantadas a uma profundidade média de 4 cm.

Semanalmente, foi avaliada a porcentagem de retenção foliar e de sobrevivência, e aos 90 dias de estaquia, além das variáveis mencionadas, também a porcentagem de estacas enraizadas e com calo, e massa fresca de raízes. A porcentagem de retenção foliar foi calculada considerando o número de folhas presentes por parcela em

cada avaliação, em relação ao total inicial de 24 meias folhas (12 estacas x 2 meias folhas por estaca).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as diferenças entre médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. A porcentagem de estacas vivas e de retenção de folhas no decorrer do período de estaquia foi analisada em separado para cada genótipo, assumindo o delineamento como em parcelas subdivididas repetidas no tempo, considerando as doses de AIB como parcela principal e dias após a estaquia como subparcela. O programa estatístico utilizado foi o Sisvar.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância revelou efeito significativo da interação genótipos x doses de AIB para a porcentagem de enraizamento e estacas com calo; de genótipos e doses de AIB, independentemente, para a porcentagem de retenção foliar e de sobrevivência; e de genótipos para a massa fresca de raízes. Para todos os genótipos a interação doses de AIB x dias após a estaquia foi significativa, na avaliação da porcentagem de retenção foliar e sobrevivência no decorrer do período de estaquia.

A retenção foliar (Tabela 1) e a sobrevivência das estacas (Tabela 2) foram superiores nos genótipos G4 e G28, com decréscimo ao realizar o tratamento com AIB, principalmente nas doses mais elevadas, de 6.000 e 9.000 mg L⁻¹. Considerando que a queda de folhas ocorre, normalmente, antes de iniciar o processo de necrose da

haste, evidencia-se uma forte relação da retenção foliar com a capacidade das estacas se manterem vivas.

Tabela 1 – Retenção foliar em estacas de cinco genótipos de erva-mate submetidas a doses de AIB. Passo Fundo, RS

Genótipos	Retenção foliar (%)				
	Doses de AIB (mg L ⁻¹)				
	0	3.000	6.000	9.000	Média
G4	90,7	74,1	50,0	24,1	59,7 a
G15	44,4	29,6	5,6	13,0	23,1 b
G25	25,9	13,0	5,6	20,4	16,2 b
G28	79,6	70,4	79,6	51,9	70,4 a
G29	70,4	43,0	7,4	7,1	32,0 b
Média	64,8 A	40,1 B	25,0 C	25,0 C	
CV (%)	47,82				

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha, e minúscula na coluna, não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Tabela 2 – Sobrevivência de estacas de cinco genótipos de erva-mate submetidas a doses de AIB. Passo Fundo, RS

Genótipos	Sobrevivência (%)				
	Doses de AIB (mg L ⁻¹)				
	0	3.000	6.000	9.000	Média
G4	92,6	77,8	62,9	37,0	67,6 a
G15	55,6	29,6	14,8	14,8	28,7 b
G25	48,2	18,5	7,4	25,9	25,0 b
G28	92,6	81,5	85,2	74,1	83,4 a
G29	81,5	48,2	11,1	14,8	38,9 b
Média	74,1 A	51,1 B	36,3 C	33,3 C	
CV (%)	18,39				

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha, e minúscula na coluna, não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Analisando os resultados de retenção foliar e sobrevivência de cada genótipo ao longo dos 90 dias de estaquia, verifica-se que o genótipo G4, que se posicionou entre os melhores genótipos, apresentou, sem AIB, reduzida queda de folhas e mortalidade (Tabela 3), não diferindo significativamente do início ao final do período. Tratando as estacas com AIB, decréscimos significativos nessas variáveis foram determinados aos 35 dias, com a dose mais baixa (3.000 mg L^{-1}), e mais cedo, aos 21 dias, com as doses mais elevadas. Após esse período mais crítico, a queda de folhas e a mortalidade se estabilizou nos tratamentos com 3.000 e 6.000 mg L^{-1} , mas na dose mais elevada a queda de folhas teve continuidade, diferindo significativamente dos demais tratamentos a partir dos 56 dias.

O genótipo G28 (Tabela 4), que também apresentou satisfatório desempenho quanto às variáveis retenção foliar e sobrevivência, estatisticamente não revelou reduções significativas sem o uso de AIB no decorrer do tempo de estaquia, semelhante ao verificado com o G4, e na dose de 6.000 mg L^{-1} . Nas doses de 3.000 e 9.000 mg L^{-1} , significativa redução foi determinada aos 63 e 56 dias, respectivamente. Porém, ao final dos 90 dias, analisando apenas o conjunto de dados desse genótipo, e não comparando com os demais, como apresentado nas Tabelas 1 e 2, não houve diferença entre o uso ou não de AIB.

Tabela 3 – Retenção foliar e sobrevivência de estacas do genótipo de erva-mate G4, no decorrer de noventa dias de estaquia, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS

Dias após a Estaquia	Retenção foliar (%)			
	Doses de AIB (mg L ⁻¹)			
	0	3.000	6.000	9.000
7	100,0 Aa	100,0 Aa	98,2 Aa	94,4 Aa
14	100,0 Aa	100,0 Aa	96,3 Aa	90,7 Aa
21	100,0 Aa	92,6 Aa	66,7 Bb	62,9 Bb
28	100,0 Aa	85,2 Ab	62,9 Cb	55,5 Bb
35	96,3 Aa	75,9 Bb	59,3 Bb	50,0 Cc
42	94,4 Aa	79,6 Ab	48,2 Bb	46,7 Cc
49	92,6 Aa	75,9 Ab	55,5 Bb	44,4 Bc
56	92,6 Aa	75,9 Ab	59,3 Bb	38,9 Cc
63	92,6 Aa	75,9 Ab	57,4 Bb	31,5 Cd
70	90,7 Aa	75,9 Ab	57,4 Bb	25,9 Cd
77	90,7 Aa	74,1 Ab	50,0 Bb	24,1 Cd
84	90,7 Aa	74,1 Ab	50,0 Bb	24,1 Cd
90	90,7 Aa	74,1 Ab	50,0 Bb	24,1 Cd
Médias	94,7	81,5	62,4	48,7
CV 1 (%)	51,30			
CV 2 (%)	15,42			
Sobrevivência (%)				
7	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
14	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	96,3 Aa
21	100,0 Aa	92,6 Aa	70,4 Bb	66,7 Bb
28	100,0 Aa	85,2 Ba	62,9 Cb	59,3 Cb
35	96,3 Aa	77,8 Bb	62,9 Cb	59,3 Cb
42	96,3 Aa	77,8 Bb	62,9 Cb	59,3 Cb
49	96,3 Aa	77,8 Bb	62,9 Cb	59,3 Cb
56	96,3 Aa	77,8 Bb	62,9 Cb	48,2 Dc
63	96,3 Aa	77,8 Bb	62,9 Cb	48,2 Dc
70	96,3 Aa	77,8 Bb	62,9 Cb	40,7 Dc
77	92,6 Aa	77,8 Bb	62,9 Cb	40,7 Dc
84	92,6 Aa	77,8 Bb	62,9 Cb	37,0 Dc
90	92,6 Aa	77,8 Bb	62,9 Cb	37,0 Dc
Médias	96,6	82,9	68,4	57,8
CV 1 (%)	57,31			
CV 2 (%)	10,29			

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha, e minúscula na coluna, não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Tabela 4 – Retenção foliar e sobrevivência de estacas do genótipo de erva-mate G28, no decorrer de noventa dias de estaquia, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS.

Dias após a Estaquia	Retenção foliar (%)			
	Doses de AIB (mg L ⁻¹)			
	0	3.000	6.000	9.000
7	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	66,7 Aa
14	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	96,3 Aa
21	100,0 Aa	98,1 Aa	96,3 Aa	92,6 Aa
28	100,0 Aa	96,3 Aa	88,9 Aa	92,6 Aa
35	94,4 Aa	96,3 Aa	88,9 Aa	92,6 Aa
42	94,4 Aa	96,3 Aa	88,9 Aa	88,9 Aa
49	90,7 Aa	92,6 Aa	88,9 Aa	88,9 Aa
56	90,7 Aa	90,7 Aa	88,9 Aa	77,8 Aa
63	87,0 Aa	83,3 Ab	88,9 Aa	77,8 Aa
70	85,2 Aa	81,5 Ab	83,3 Aa	68,5 Ab
77	83,3 Aa	77,8 Ab	79,6 Aa	61,1 Ab
84	79,6 Aa	70,4 Ab	79,6 Aa	55,6 Ab
90	79,6 Aa	70,4 Ab	79,6 Aa	51,8 Ab
Médias	91,4	88,7	88,3	77,3
CV 1 (%)	50,46			
CV 2 (%)	13,13			
Dias	Sobrevivência (%)			
7	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
14	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa
21	100,0 Aa	100,0 Aa	96,3 Aa	96,3 Aa
28	100,0 Aa	96,3 Aa	88,9 Aa	96,3 Aa
35	96,3 Aa	96,3 Aa	88,9 Aa	96,3 Aa
42	96,3 Aa	96,3 Aa	88,9 Aa	96,3 Aa
49	96,3 Aa	96,3 Aa	88,9 Aa	96,3 Aa
56	96,3 Aa	92,6 Aa	88,9 Aa	85,2 Ab
63	96,3 Aa	85,2 Ab	88,9 Aa	85,2 Ab
70	96,3 Aa	85,2 Ab	85,9 Aa	81,2 Ab
77	96,3 Aa	81,5 Ab	85,2 Aa	81,5 Ab
84	92,6 Aa	81,5 Ab	85,2 Aa	74,1 Ab
90	92,6 Aa	81,5 Ab	85,2 Aa	74,1 Ab
Médias	96,9	91,7	90,0	88,3
CV 1 (%)	41,91			
CV 2 (%)	10,91			

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha, e minúscula na coluna, não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade de erro.

Os resultados obtidos para o genótipo G29 (Tabela 5) foram os que mais evidenciaram, entre todos os genótipos, o efeito negativo do AIB para essas variáveis. Sem AIB, a retenção foliar e a sobrevivência não diferiram estatisticamente no decorrer do período, apresentando porcentagens similares aos genótipos G4 e G28. Porém, com AIB, houve significativo decréscimo, principalmente com as doses mais elevadas. Com 3.000 mg L⁻¹ houve significativa queda das folhas na avaliação aos 28 dias, e na sobrevivência aos 21 dias, estabilizando posteriormente. Porém, nas doses mais elevadas, após uma semana a queda de folhas já registrava 33,3%, com elevação da queda até 21 e 28 dias, para as respectivas doses de 6.000 e 9.000 mg L⁻¹. Também a mortalidade, com a dose mais alta, foi elevada na primeira semana, registrando 66,7% de sobrevivência, progredindo até 35 dias e atingindo ao final 14,8%. Com 6.000 mg L⁻¹ a redução mais significativa da sobrevivência se deu entre a segunda e a terceira semana, registrando ao final apenas 11,1%.

Com relação ao genótipo G15 (Tabela 6), foi verificado que, sem AIB, diferentemente do observado em G4, G28 e G29, houve significativa queda de folhas e mortalidade na terceira semana de estadia (21 dias), e aos 35 dias novamente na retenção foliar, mantendo-se estável até o final. O uso do AIB proporcionou menor retenção foliar e sobrevivência, em relação à sem AIB, não diferindo as doses testadas entre si, a cada data de avaliação. A queda de folhas foi elevada nas primeiras duas a três semanas, dependendo da dose de AIB, com conseqüente diminuição progressiva da sobrevivência até os 28 dias, quando estabilizou, mas em porcentagens reduzidas.

Tabela 5 – Retenção foliar e sobrevivência de estacas do genótipo de erva-mate G29, no decorrer de noventa dias de estaquia, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS.

Dias após a Estaquia	Retenção foliar (%)			
	Doses de AIB (mg L ⁻¹)			
	0	3.000	6.000	9.000
7	100,0 Aa	92,6 Aa	66,7 Ba	66,7 Ba
14	96,3 Aa	88,9 Aa	48,2 Ba	42,6 Bb
21	92,6 Aa	72,2 Aa	25,9 Bb	35,2 Bb
28	88,9 Aa	62,9 Bb	18,5 Cb	25,9 Cc
35	88,9 Aa	59,3 Bb	11,1 Cb	11,1 Cc
42	88,9 Aa	59,3 Cb	11,1 Cb	11,1 Cc
49	81,5 Aa	59,3 Ab	11,1 Bb	11,1 Bc
56	81,5 Aa	51,8 Bb	11,1 Cb	9,3 Cc
63	81,5 Aa	51,8 Bb	9,3 Cb	7,4 Cc
70	81,5 Aa	48,1 Bb	9,3 Cb	7,4 Cc
77	72,2 Aa	42,6 Bb	7,4 Cb	7,4 Cc
84	70,4 Aa	42,6 Bb	7,4 Cb	7,4 Cc
90	70,4 Aa	42,6 Bb	7,4 Cb	7,4 Cc
Médias	84,2	57,6	19,1	25,5
CV 1 (%)	177,91			
CV 2 (%)	29,57			
	Sobrevivência (%)			
	0	3.000	6.000	9.000
7	100,0 Aa	100,0 Aa	81,5 Ba	66,7 Ba
14	96,3 Aa	100,0 Aa	55,6 Bb	48,2 Bb
21	96,3 Aa	85,2 Bb	48,2 Cc	40,7 Bb
28	88,9 Aa	62,9 Bb	25,9 Cc	37,0 Cb
35	88,9 Aa	59,3 Bb	11,1 Cc	18,5 Cc
42	85,2 Aa	59,3 Bb	11,1 Cc	18,5 Cc
49	85,2 Aa	59,3 Bb	11,1 Cc	18,5 Cc
56	85,2 Aa	51,8 Bb	11,1 Cc	14,8 Cc
63	85,2 Aa	51,8 Bb	11,1 Cc	14,8 Cc
70	85,2 Aa	48,2 Bb	11,1 Cc	14,8 Cc
77	81,5 Aa	48,2 Bb	11,1 Cc	14,8 Cc
84	81,5 Aa	48,2 Bb	11,1 Cc	14,8 Cc
90	81,5 Aa	48,2 Bb	11,1 Cc	14,8 Cc
Médias	87,8	63,3	23,9	25,9
CV 1 (%)	153,18			
CV 2 (%)	25,54			

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha, e minúscula na coluna, não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Tabela 6 – Retenção foliar e sobrevivência de estacas do genótipo de erva-mate G15, no decorrer de noventa dias de estaquia, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS

Dias após a Estaquia	Retenção foliar (%)			
	Doses de AIB (mg L ⁻¹)			
	0	3.000	6.000	9.000
7	100,0 Aa	90,7 Aa	81,5 Aa	66,7 Aa
14	98,2 Aa	70,4 Aa	50,0 Bb	37,0 Bb
21	74,1 Ab	48,2 Bb	35,2 Bc	22,2 Cb
28	70,4 Ab	33,3 Bb	27,8 Bc	20,4 Bb
35	59,3 Ac	31,5 Bb	14,8 Bd	14,8 Bb
42	59,3 Ac	31,5 Bb	12,9 Bd	14,8 Bb
49	59,3 Ac	29,6 Bb	7,4 Bd	14,8 Bb
56	57,4 Ac	29,6 Bb	5,6 Bd	14,8 Bb
63	57,4 Ac	29,6 Bb	5,6 Bd	14,8 Bb
70	51,9 Ac	29,6 Bb	5,6 Bd	12,9 Bb
77	44,4 Ac	29,6 Bb	5,6 Bd	12,9 Bb
84	44,4 Ac	29,6 Bb	5,6 Bd	12,9 Bb
90	44,4 Ac	29,6 Bb	5,6 Bd	12,9 Bb
Médias	60,8	39,3	20,2	21,4
CV 1 (%)	167,93			
CV 2 (%)	40,49			
Sobrevivência (%)				
7	100,0 Aa	100,0 Aa	100,0 Aa	88,9 Aa
14	100,0 Aa	81,5 Bb	70,4 Bb	62,9 Bb
21	74,1 Ab	55,6 Bc	55,5 Bc	33,3 Cc
28	59,3 Ab	29,6 Bd	37,0 Bd	25,9 Bc
35	59,3 Ab	29,6 Bd	18,5 Bd	14,8 Bc
42	59,3 Ab	29,6 Bd	18,5 Bd	14,8 Bc
49	55,6 Ab	29,6 Bd	18,5 Bd	14,8 Bc
56	55,6 Ab	29,6 Bd	14,8 Bd	14,8 Bc
63	55,6 Ab	29,6 Bd	14,8 Bd	14,8 Bc
70	55,6 Ab	29,6 Bd	14,8 Bd	14,8 Bc
77	55,6 Ab	29,6 Bd	14,8 Bd	14,8 Bc
84	55,6 Ab	29,6 Bd	14,8 Bd	14,8 Bc
90	55,6 Ab	29,6 Bd	14,8 Bd	14,8 Bc
Médias	65,8	41,3	31,3	26,5
CV 1 (%)	59,51			
CV 2 (%)	23,55			

Médias seguidas de mesma letra na linha e na coluna não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

O genótipo G25 (Tabela 7) apresentou resultados similares ao G15, com significativa queda de folhas nas primeiras três semanas

(21 dias), sem ou com AIB, com conseqüente elevação da mortalidade até os 28 dias. Ao final do período as estacas tratadas com AIB apresentavam menor retenção de folhas e sobrevivência, não diferindo as doses testadas entre si.

Outros autores constataram redução da retenção foliar e da sobrevivência com o uso do AIB em erva-mate, dependendo da dose, da planta, da época de estaquia, dentre outras variáveis.

Santos (2011) estudou a propagação por estaquia de doze genótipos nativos de erva-mate, sem e com 6.000 mg L^{-1} , tendo constatado variações entre genótipos quanto a porcentagem de retenção de folhas. Para vários genótipos a maior intensidade de queda de folhas ocorreu aplicando AIB. Nas primeiras duas semanas foi constatada maior queda, como observado também no presente trabalho, refletindo diretamente na maior mortalidade de estacas até a terceira semana. Os melhores resultados de sobrevivência, sem AIB, alcançaram entre 53,2% e 80,2%, e com AIB de 51,7% a 65,1%. No outono inverno, quando comparados os tratamentos sem e com AIB, foi verificado que, em 56 % dos genótipos, o uso do AIB reduziu a sobrevivência.

Tabela 7 – Retenção foliar e sobrevivência de estacas do genótipo de erva-mate G25, no decorrer de noventa dias de estaquia, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS.

Dias após a Estaquia	Retenção foliar (%)			
	Doses de AIB (mg L ⁻¹)			
	0	3.000	6.000	9.000
7	92,6 Aa	81,5 Aa	90,7 Aa	90,7 Aa
14	83,3 Aa	62,9 Aa	64,8 Ab	74,1 Aa
21	50,0 Ab	37,0 Ab	27,8 Ac	44,4 Bb
28	35,2 Ab	25,9 Bb	22,2 Bc	33,3 Bb
35	27,8 Ab	16,7 Bb	22,2 Bc	33,3 Bb
42	27,8 Ab	12,9 Bb	22,2 Bc	33,3 Bb
49	27,8 Ab	18,5 Bb	11,1 Bd	33,3 Bb
56	27,8 Ab	18,5 Bb	11,1 Bd	24,1 Bc
63	27,8 Ab	18,5 Bb	11,1 Bd	22,2 Bc
70	25,9 Ab	18,5 Bb	11,1 Bd	22,2 Bc
77	25,9 Ab	12,9 Bb	5,6 Bd	20,4 Bc
84	25,9 Ab	12,9 Bb	5,6 Bd	20,4 Bc
90	25,9 Ab	12,9 Bb	5,6 Bd	20,4 Bc
Médias	38,9	26,9	26,1	37,1
CV 1 (%)	168,65			
CV 2 (%)	37,68			
Sobrevivência (%)				
7	96,3 Aa	92,6 Aa	96,3 Aa	100,0 Aa
14	92,6 Aa	88,9 Aa	92,6 Aa	92,6 Aa
21	66,7 Ab	51,8 Bb	70,4 Ab	51,8 Bb
28	59,2 Ab	33,3 Bc	44,4 Bc	33,3 Bb
35	51,8 Ab	22,2 Bc	25,9 Bc	33,3 Bb
42	51,8 Ab	22,2 Bc	25,9 Bc	33,3 Bb
49	51,8 Ab	22,2 Bc	25,9 Bc	33,3 Bb
56	48,1 Ab	22,2 Bc	11,1 Bd	25,9 Bb
63	48,1 Ab	22,2 Bc	11,1 Bd	25,9 Bb
70	48,1 Ab	22,2 Bc	11,1 Bd	25,9 Bb
77	48,1 Ab	18,5 Bc	7,4 Bd	25,9 Bb
84	48,1 Ab	18,5 Bc	7,4 Bd	25,9 Bb
90	48,1 Ab	18,5 Bc	7,4 Bd	25,9 Bb
Médias	58,4	35,0	33,6	40,9
CV 1 (%)	160,17			
CV 2 (%)	27,61			

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha, e minúscula na coluna, não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Hettwer (2013), avaliando quatorze genótipos de erva-mate *Cambona 4*, constatou variação entre plantas quanto à retenção das folhas, destacando que, em sete genótipos, a retenção foi

significativamente menor com a utilização do AIB, com tendência de maior queda também nos demais genótipos, evidenciando um possível efeito fitotóxico do AIB.

Horbarch (2008) testou a estaquia de ramos jovens de uma planta de erva-mate com aproximadamente 10 anos de idade, preparados com o comprimento de 3 cm e 10 cm, utilizando as doses de 0, 4.000 e 8.000 mg L⁻¹ de AIB. Verificou que as diferentes doses de AIB reduziram a sobrevivência das estacas de 3 cm, não sendo observada diferença significativa entre as doses para estacas de 10 cm. Quadros (2009) também verificou que a presença de folhas é importante para a sobrevivência e enraizamento da erva-mate.

A relação positiva entre a capacidade de retenção de folhas e a sobrevivência deve ser destacada, afinal as folhas garantem um bom suprimento de energia e são fontes produtoras de auxinas e cofatores, como também afirmam Iritani & Soares (1981). Porém, para alguns genótipos, a regra parece não se aplicar. Santos (2011) constatou em um dos genótipos estudados que, aplicando AIB, houve baixa retenção foliar (20,8%) e sobrevivência (47,7%), mas outro genótipo (G12), com a mesma retenção foliar, apresentou 91,7 % de estacas vivas, contrariando a correlação esperada e demonstrando que há uma variabilidade genética também em relação à necessidade da presença de folhas para a estaca se manter viva.

Para Morales (1990), a presença de folhas em estacas semilenhosas é fundamental em algumas espécies perenes para o sucesso da propagação por estaquia, sendo importante determinar o número ideal de folhas.

A porcentagem de enraizamento foi maior nos genótipos G4 e G28 (Tabela 8). Sem AIB, o genótipo G4 (77,8%) apresentou maior enraizamento que G28 (48,1%), mas quando tratadas as estacas com o fitorregulador não diferiram entre si. O G4 apresentou menor enraizamento (25,9%) com a dose mais elevada. Os demais genótipos revelaram baixo ou nulo enraizamento, entre 0,0% e 18,5%, com destaque para o G15, que sem AIB apresentou 29,6% de enraizamento e com a aplicação entre 0,0% e 3,7%. Os resultados demonstram relação do enraizamento com a retenção de folhas, e conseqüente sobrevivência, considerando que G4 e G28 também se destacaram em relação a essas variáveis. Nas Figura 1 e 2 são apresentadas estacas enraizadas dos genótipos G4 e G28 nas diferentes doses, após 90 dias de estaquia.

Tabela 8 – Enraizamento de estacas de cinco genótipos de erva-mate submetidas a doses de AIB. Passo Fundo, RS

Genótipos	Enraizamento (%)				Média
	Doses de AIB (mg L ⁻¹)				
	0	3.000	6.000	9.000	
G4	77,8 Aa	66,7 Aa	51,9 Aa	25,9 Ba	55,5
G15	29,6 Ac	3,7 Bb	0,0 Bb	3,7 Bb	9,3
G25	3,7 Ad	3,7Ab	3,7 Ab	3,7 Ab	3,7
G28	48,1 Ab	59,3 Aa	66,7Aa	33,3 Aa	51,9
G29	0,0 Ad	18,5 Ab	0,0 Ab	7,4 Ab	6,5
Média	31,9	30,4	24,4	14,8	
CV (%)	40,73				

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha, e minúscula na coluna, não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade de erro.



Figura 1 - Estacas de erva-mate do G4 enraizadas nas doses de 0, 3.000, 6.000 e 9.000 mg L⁻¹ de AIB. Passo Fundo, RS.



Figura 2 - Estacas de erva-mate do G28 enraizadas nas doses de 0, 3.000, 6.000 e 9.000 mg L⁻¹ de AIB. Passo Fundo, RS.

No presente trabalho, o uso do AIB não demonstrou exercer efeito de incremento na porcentagem de enraizamento. Koehler et al. (2009), testando 0, 1.500, 3.000, 4.500 e 6.000 mg L⁻¹ de AIB em erva-mate, também não verificaram influência sobre o enraizamento de estacas rejuvenescidas, indicando uma quantidade endógena de auxinas suficiente para a promoção do processo de formação de raízes, enquanto estacas maduras não enraizaram. Mas outros trabalhos demonstram a ocorrência de variabilidade no potencial de enraizamento entre genótipos de erva-mate, e na resposta ao tratamento com AIB. Horbach (2008), testando 0, 4.000 e 8.000 mg L⁻¹ de AIB verificou que a aplicação de AIB aumentou a quantidade de estacas enraizadas. Quadros (2009), ao utilizar 1.000 mg L⁻¹ de AIB, obteve 78,6% de enraizamento de micro-estacas de erva-mate, enquanto sem tratamento não houve emissão de raízes. Zerbielli et al. (2011), comparando quatro genótipos de erva-mate, obtiveram em um dos genótipos, com a utilização de 8.000 mg L⁻¹, enraizamento de 77,8%, e sem o regulador apenas 19,4%. Nos demais genótipos o enraizamento foi, com AIB, abaixo de 8,3%, e nulo sem AIB.

Hettwer (2013) verificou que a porcentagem de estacas enraizadas com 6.000 mg L⁻¹ de AIB foi maior em relação à testemunha, em seis dos quatorze genótipos estudados, sendo que, para nenhum genótipo, o regulador apresentou efeito negativo. Com AIB o enraizamento variou de 25% a 52,6%. Sem AIB, seis genótipos apresentaram maior enraizamento (23,4% a 47,9%). Os demais genótipos apresentaram muito baixo ou nulo enraizamento (0% a 12,5%).

Sobre a presença de calo nas estacas vivas (Tabela 9), verificou-se que, em geral, as estacas enraizadas também apresentaram a formação de calo, considerando que as porcentagens apresentadas nas Tabelas 8 e 9 são próximas ou idênticas. Diferenças mais acentuadas entre estacas enraizadas e com calo foram observadas no genótipo G4, principalmente utilizando AIB, com o aumento da dose promovendo redução da porcentagem de estacas com calo.

Tabela 9 – Presença de calo em estacas de cinco genótipos de erva-mate submetidas a doses de AIB. Passo Fundo, RS

Genótipos	Presença apenas de calo (%)				Média
	Doses de AIB (mg L ⁻¹)				
	0	3.000	6.000	9.000	
G4	70,4 Aa	44,4 Ba	29,6 Cb	14,8 Ca	39,8
G15	14,8 Ac	0,0 Ab	0,0 Ac	3,7 Aa	4,6
G25	0,0 Ac	3,7 Ab	3,7 Ac	3,7 Aa	2,8
G28	48,1 Ab	51,9 Aa	55,6 Aa	29,6 Aa	46,3
G29	0,0 Ac	18,5 Ab	0,0 Ac	7,4 Aa	6,5
Média	26,7	23,7	17,8	11,9	
CV (%)	65,16				

Médias antecedidas de mesma letra na linha, e seguidas de mesma letra minúscula na coluna, não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

A ocorrência de calo e enraizamento, segundo Hartmann et al. (2002), não é obrigatória, pois os dois processos são independentes, sendo a ocorrência simultânea ocasionada por semelhantes condições ambientais e internas das estacas. Ressaltam que, em algumas espécies, a formação de calo é um precursor da formação de raízes adventícias, enquanto em outras o excesso de calo pode impedir o enraizamento. Conforme Quadros (2009), o enraizamento é afetado

positiva ou negativamente pela presença de calo, das folhas primárias e pela emissão de brotos, dependendo da origem do material e do grau de rejuvenescimento da estaca.

A massa fresca de raízes (Tabela 10), considerando a maior capacidade de enraizamento verificada na Tabela 8, foi maior nos genótipos G4 e G28, não diferindo nos demais genótipos. As doses não revelaram efeito significativo sobre esta variável.

Tabela 10 – Massa fresca de raízes de estacas de cinco genótipos de erva-mate submetidas a doses de AIB. Passo Fundo, RS

Genótipos	Massa fresca de raízes (g massa fresca/estaca)				Média
	Doses de AIB (mg L ⁻¹)				
	0	3.000	6.000	9.000	
G4	0,1086	0,1503	0,1848	0,0510	0,1237 a
G15	0,0080	0,0015	0,0000	0,0009	0,0026 b
G25	0,0018	0,0030	0,0020	0,0016	0,0021 b
G28	0,0876	0,0870	0,1336	0,1093	0,1044 a
G29	0,0000	0,0670	0,0000	0,0493	0,0291 b
Média	0,0412 ^{NS}	0,0618	0,0641	0,0440	
CV (%)	84,80				

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade de erro. ^{NS} – Não significativo pelo Teste F.

Finalizando, a pesquisa demonstrou que as estacas passam por um período crítico quanto à manutenção das folhas e sobrevivência, até a quarta ou quinta semana após a estaquia, e dependendo do genótipo de erva-mate, pode haver prejuízo a essas variáveis, e ao enraizamento, a utilização do AIB, principalmente em doses mais elevadas. Esta constatação não significa que o AIB não deve ser recomendado, uma vez que outros trabalhos realizados

demonstram a eficiência do uso no enraizamento. Outro destaque revelado é a possibilidade de se encontrar na natureza genótipos de erva-mate que apresentam satisfatória capacidade de enraizamento, mesmo sem o uso do AIB, como ocorreu com o G4 (77,8%). Também é importante mencionar que, de acordo com o Capítulo II desse trabalho, evidenciou-se que a atividade da peroxidase, considerada uma enzima indicadora de estresse, possui relação com a retenção foliar e a sobrevivência de estacas. Esse fato demonstra a necessidade da continuidade da realização de trabalhos de seleção de genótipos superiores, com elevadas características agronômicas, como produtividade e qualidade da matéria prima, mas com elevada capacidade de enraizamento, de modo a viabilizar a clonagem como técnica de produção comercial de mudas.

4 CONCLUSÕES

a) O uso do AIB, dependendo do genótipo de erva-mate, reduz a retenção foliar, a sobrevivência e a porcentagem de enraizamento das estacas, principalmente em doses mais elevadas.

b) A retenção foliar é fundamental para a sobrevivência das estacas e o enraizamento, variando a resposta entre genótipos e o uso ou não de AIB.

c) O período crítico quanto à retenção foliar e sobrevivência, dependendo do genótipo e uso ou não de AIB, se estende até a quarta ou quinta semana após a estaquia.

d) Os genótipos G4 e G28 apresentam potencial para serem recomendados como possíveis matrizes ao adotar a técnica de clonagem por estaquia.

CAPÍTULO II

ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS EM RESPOSTA AO USO DO ÁCIDO INDOLBUTÍRICO NA PROPAGAÇÃO POR ESTAQUIA DA ERVA-MATE

Valesca Franciele Joana Mello Hettwer¹

RESUMO - Na estaquia da erva-mate, o ácido indolbutírico (AIB) tem demonstrado ser frequentemente eficiente na indução de raízes, mas também propiciado, dependendo do genótipo, menor retenção de folhas e sobrevivência, decorrente de um possível estresse ou efeito fitotóxico. O objetivo deste trabalho foi avaliar possíveis alterações da atividade da peroxidase, dos níveis de açúcares solúveis totais e de proteínas, ao serem submetidas as estacas de cinco genótipos de erva-mate (G4, G15, G25, G28 e G29) a doses de AIB (0, 3.000, 6.000 e 9.000 mg. L⁻¹) por 10 segundos. A estaquia foi realizada em casa de vegetação, com sistema de nebulização intermitente, utilizando como substrato casca de arroz carbonizada. As determinações foram realizadas nas folhas e nas hastes das estacas imediatamente após a coleta nas plantas (tempo 0), e aos 6, 12 e 18 dias após a estaquia. Os resultados demonstraram que, no erval, os segmentos apicais utilizados como estacas apresentam atividade da peroxidase, concentração de açúcares solúveis totais e de proteínas solúveis que

¹Bióloga, doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAgro), Área de Concentração em Produção Vegetal, da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF).

diferem entre genótipos. No decorrer dos 18 dias a elevação dos teores de açúcares foi contínua, porém os maiores níveis de proteína foram detectados aos seis dias, e da atividade da peroxidase aos 12 dias. A atividade da peroxidase nas folhas foi maior que nas hastes. As variações e incrementos revelam que se trata de um período de elevado estresse, podendo ser determinante na sobrevivência, retenção foliar e posterior enraizamento das estacas de erva-mate. Alterações na atividade da peroxidase e na concentração de proteínas evidenciam que, dependendo do genótipo e dose, o uso do ácido indolbutírico (AIB) pode propiciar estresse ou efeito fitotóxico.

Palavras-chave: Açúcares, estresse, *Ilex paraguariensis* St. Hil, peroxidase, proteínas,

BIOCHEMICAL CHANGES IN RESPONSE TO THE USE OF INDOL BUTYRIC ACID IN THE SPREAD BY YERBA-MATE CUTTING

ABSTRACT - In yerba mate cuttings, the IBA has shown to be effective in often inducing roots, but also causing, depending on the genotype, lower retention of leaves and survival, as consequence of the possible stress or phytotoxic effect. The objective of this study was to evaluate possible changes in peroxidase activity, the levels of all soluble sugars and proteins, to be submitted to the stems of five yerba mate genotypes (G4, G15, G25, G28 and G29) at doses of IBA (0 , 3,000, 6,000 and 9,000 mg. L⁻¹) for 10 seconds. Rooting was carried out in a greenhouse with intermittent mist system, using the substrate

carbonized rice husk. The determinations were performed in leaves and stems of the cuttings immediately after harvesting the plants (time 0), and at 6, 12 and 18 days after cutting. The results showed that in the herbal field, apices used as pegs have peroxidase activity, levels of soluble sugars and proteins that differ between genotypes. During the 18 days the increase in sugar content was solid, but the higher protein levels were detected at 6 days, and the peroxidase activity at 12 days. The peroxidase activity in leaves was higher than in the stems. The variations and increase show that it is a high stress period, which may be decisive in the survival, leaf retention and subsequent rooting of yerba mate stakes. Changes in peroxidase activity and protein levels show that, depending on the genotype and dose, the use of indolbutyric acid (IBA) can provide stress or phytotoxic effect.

Key words: Sugars, stress, *Ilex paraguariensis* St. Hil, peroxidase proteins.

1 INTRODUÇÃO

A atividade da peroxidase, na maioria dos casos, aumenta sob diferentes situações de estresse (SCHALLENBERGER, 1994). A inibição da síntese de cofatores de enraizamento aumenta a atividade da peroxidase e a formação de barreiras histológicas (HARTMANN et al., 2002). A enzima está envolvida em diversas reações, ligações de polissacarídeos, oxidação do ácido indol 3 acético (AIA), ligações de monômeros, lignificação, cicatrização de ferimentos, oxidação de

fenóis, defesa contra patógenos, regulação da elongação de células e outras (CAMPOS & SILVEIRA, 2003).

Admite-se que a variação da atividade de peroxidase tem efeito sobre o aumento de raízes via metabolismo do AIA (ácido indolacético), de ocorrência natural (HAUSMANN, 1993). O grau de lignificação de estacas tem correlação com as auxinas, pois enzimas como a peroxidase participam tanto da síntese de lignina como da degradação de auxina (PASSARDI et al., 2004).

Os açúcares solúveis totais são essenciais ao metabolismo, no desenvolvimento e em muitos processos fisiológicos (GIBSON, 2003) e metabólicos, tais como a fotossíntese, e a síntese e degradação de amido em plantas superiores (KOCH, 1996; KRAPP et al. 1993). Segundo Kraus et al. (2004), os carboidratos estão envolvidos no processo que antecede a divisão celular, possivelmente servindo como fonte de energia.

O particionamento de carboidratos na planta implica a fixação inicial, conversão metabólica e transporte a longa distância dos compostos de carbono na planta, a qual consiste na translocação de açúcares ou açúcares-álcoois a partir das folhas fotossinteticamente ativas (fontes) para os tecidos não fotossintéticos (drenos). O mecanismo de carregamento utilizado pelo floema pode aumentar ou restringir a fixação e o fluxo de carbono, em resposta às condições ambientais, podendo limitar a força dos drenos e a produção de carboidratos nas fontes (SLEWINSKI & BRAUN, 2010).

As auxinas influenciam na partição de carboidratos, pois estimulam a mobilização das folhas e ápice caulinar, além de estimular a translocação de assimilados para os órgãos drenos

(ALBACETE et al., 2013).

Devido aos açúcares serem produtos primários da fotossíntese, as concentrações podem ser parte do sistema de sinalização, pois níveis elevados reprimem a expressão de genes associados à fotossíntese, através de um sistema feedback negativo do produto final (QUIRINO et al., 2000).

Em relação aos níveis de proteínas, em condições de estresse há um aumento da atividade enzimática, que quebram proteínas de reserva das plantas. Vários são os fatores externos que alteram os níveis de proteínas, como déficit hídrico, salinidade, fitotoxidez por algum produto, ocasionando problemas no metabolismo da planta (PISA & LIMA, 2003).

A utilização do regulador de crescimento ácido indolbutírico (AIB) na estaquia de erva-mate tem demonstrado eficiência na promoção radicial, dependendo do genótipo (ZERBIELLI, 2011; QUADROS, 2009; SANTOS, 2011, HETTWER, 2013). Entretanto, alguns autores, como Santos (2011) e Hettwer (2013) constataram efeito fitotóxico do AIB, reduzindo a sobrevivência e retenção das folhas. Como estas duas variáveis são determinantes para obter um elevado potencial de enraizamento, se faz necessário o estudo de possíveis causas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar, no processo de propagação por estaquia de diferentes genótipos de erva-mate, as possíveis alterações em estacas da atividade da peroxidase, dos níveis de açúcares solúveis totais e de proteínas, ao serem submetidas a doses de ácido indolbutírico (AIB).

2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no Setor de Horticultura da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF), em Passo Fundo, Rio Grande do Sul. A estrutura utilizada foi uma estufa agrícola medindo 10 m x 21 m, com pé direito de 2,5 m e cobertura de polietileno de baixa densidade (PEBD) com 150 μm de espessura, dotada de aditivo antiultravioleta. Para minimizar a insolação e a temperatura foi instalada uma tela (tipo sombrite) de 70 % de sombreamento, disposta horizontalmente a 2,5 m de altura na parte interna, e nas laterais. O sistema de irrigação, do tipo intermitente, constou de três linhas distanciadas de 1,5 m, com bicos nebulizadores dispostos a cada 1 m. O sistema de nebulização foi acionado automaticamente a cada 8 minutos, com duração do molhamento de 10 segundos.

Foram utilizados genótipos de erva-mate localizados em um erval comercial no município de Mato Castelhano, RS. Com base nos resultados obtidos de 30 genótipos estudados por Tres (2016), utilizando 8.000 mg L⁻¹ de AIB, foram selecionados cinco desses genótipos, sendo três que haviam apresentado satisfatório enraizamento, entre 75% e 85% (G4, G25 e G28), e dois com baixo enraizamento, de 12,5% (G15 e G29). Após coletadas na planta as estacas foram umedecidas e acondicionadas em sacos de polietileno, conservando em caixas de isopor com gelo até a transferência para o Laboratório de Virologia Vegetal da FAMV-UPF. As estacas foram padronizadas com 10 cm de comprimento, cortando transversalmente o ápice e em bisel a base, mantendo duas folhas reduzidas pela

metade. A desinfestação foi realizada mediante imersão por 5 minutos em solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, e posteriormente lavadas em água corrente. No preparo das soluções de AIB, o produto puro da marca Sigma foi diluído em 50% de álcool etílico 70 °GL, completando o volume com água destilada.

A estaquia dos cinco genótipos foi realizada em 08 de dezembro de 2015, tratadas as estacas com 0, 3.000, 6.000 e 9.000 mg L⁻¹ de AIB, mediante a imersão da base (3-4 cm) por 10 segundos na solução. No Laboratório de Virologia Vegetal foram realizadas, imediatamente após a coleta das estacas nas plantas (tempo 0), e aos 6, 12 e 18 dias após a estaquia, as determinações nas folhas e nas hastes da atividade da peroxidase, dos níveis de açúcares solúveis totais e de proteínas solúveis.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, arranjos no esquema fatorial 5 x 4 (genótipos x doses de AIB), com 6 estacas por parcela e 3 repetições. No Laboratório de Virologia Vegetal da FAMV/UPF foram realizadas, imediatamente após a coleta das estacas nas plantas (tempo 0), e aos 6, 12 e 18 dias após a estaquia, as determinações da atividade da peroxidase nas folhas e nas hastes de duas estacas em cada tempo (subparcelas). Assim, para efeito estatístico, a atividade da enzima para cada genótipo foi comparada considerando o delineamento como sendo em parcelas subdivididas no tempo, reconhecendo as doses de AIB como parcela principal e os tempos como subparcelas.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as diferenças entre médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade de erro. A regressão polinomial foi testada para a

comparação do efeito de doses de AIB e dias após a estaquia, porém foram baixos os coeficientes de determinação (R^2) obtidos. O programa estatístico utilizado foi o Sisvar.

2.1 Determinação da atividade da peroxidase

Para a determinação da peroxidase foi utilizado o método de Allain et al. (1974). O extrato enzimático foi obtido pela homogeneização, separadamente, de 200 mg de matéria fresca de tecido foliar e de hastes em cadinhos de porcelana, com auxílio de um pistilo. Para a obtenção do extrato enzimático utilizou-se nitrogênio líquido e 2 mL de tampão fosfato de potássio 0,2 M pH 6,7 (gelado), seguido de centrifugação por 3 minutos a 4.000 rpm, a 4 °C.

O sistema de reação continha 0,5 mL de extrato enzimático; 0,5 mL de tampão fosfato de potássio 0,2 M pH 6,7; 0,5 mL de solução de H_2O_2 30 %; e 0,5 mL de uma solução de diclorofenol e aminoantipirina (163 mg de diclorofenol + 81,3 mg de aminoantipirina em 100 mL de H_2O).

Os tubos foram incubados em banho maria a 30 °C por 5 minutos, sendo a reação interrompida pela adição de 2 mL de etanol absoluto. Após agitação, procedeu-se a leitura em espectrofotômetro a 505 nm. A atividade da peroxidase foi expressa em μMol de H_2O_2 decomposto por minuto/mg de proteínas, utilizando-se a seguinte fórmula:

$$U = \frac{L \cdot VT}{6,58 \cdot t}$$

Sendo: U = unidade da atividade da peroxidase; L = leitura (em absorbância); VT = volume total da reação (2 mL); t = tempo de incubação (5 min); e 6,58= absorvidade molar do composto colorido. O valor de U dividiu-se pelo teor de proteínas solúveis da amostra correspondente, obtendo-se a atividade da peroxidase em cada minuto da reação por mg de proteínas.

2.2 Determinação da concentração de proteínas solúveis

Para a determinação dos teores de proteínas utilizou-se o método de Bradford (1976). O extrato bruto foi o mesmo utilizado para determinação da peroxidase, descrito no item 2.1. Para proceder a análise utilizaram-se 0,1 mL de extrato e 5,0 mL do reativo Bradford, seguido de repouso por 5 minutos. As leituras foram feitas em espectrofotômetro a 595 nm, comparadas com a curva padrão de caseína.

2.3 Determinação da concentração de açúcares solúveis totais

Os açúcares solúveis totais foram determinados utilizando o método do ácido fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956). O extrato bruto foi o mesmo utilizado para determinação da peroxidase, descrito no item 2.1. O meio de reação continha 0,5 mL do extrato bruto; 0,5 mL de tampão fosfato de potássio 0,2 M pH 6,7, 0,5 mL de fenol 5% e 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado. Após agitação os tubos foram mantidos em repouso por 20 minutos para a leitura da absorbância a 490 nm. As leituras foram comparadas com a curva padrão de glicose

e os resultados expressos em mg de açúcares totais/g de massa fresca.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Atividade da peroxidase

A atividade da peroxidase nas folhas dos cinco genótipos de erva-mate, antes da estaquia (tempo 0), variou significativamente. Também após a estaquia (6, 12 e 18 dias) foram verificadas variações significativas entre os genótipos, e efeito de doses de AIB aos 12 e 18 dias (Tabela 1).

Imediatamente após a coleta das estacas no erval (tempo 0), e aos seis dias após a estaquia, as folhas das estacas dos genótipos G4 e G29 destacaram-se por apresentar maior atividade da peroxidase (Tabela 1), não diferindo os demais genótipos entre si. Aos 12 dias foi verificado um aumento significativo da atividade da enzima, apresentando-se apenas o G28 com menor atividade. Aos 18 dias houve redução da atividade da peroxidase, destacando-se as folhas do G29 com maior atividade.

Tabela 1 – Atividade da peroxidase em folhas de estacas de cinco genótipos de erva-mate antes (tempo 0) e aos 6, 12 e 18 dias após a estaquia, tratadas com doses de AIB. Passo Fundo, RS

		Atividade da peroxidase nas folhas ($\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg de proteína}$)									
		Tempo após a estaquia									
Genótipos	0	6 dias			12 dias			18 dias			
		Doses de AIB (mg L^{-1})			Doses de AIB (mg L^{-1})			Doses de AIB (mg L^{-1})			
		0	3.000	6.000	9.000	Médias	0	3.000	6.000	9.000	Médias
G4		20,54	21,09	25,70	26,76	23,52 a	13,50	29,88	42,04	30,83	29,06 b
G15		20,20	15,43	17,32	18,05	17,83 b	23,39	29,55	28,25	34,69	28,97 b
G25		9,19	13,45	19,80	20,84	15,82 b	29,74	26,23	34,69	32,90	30,77 b
G28		13,57	16,13	15,29	15,29	15,07 b	26,01	26,74	32,69	20,04	23,93 b
G29		25,86	27,55	26,30	28,17	26,98 a	34,45	33,50	51,60	43,61	39,30 a
Médias		^{NS} 17,93	18,73	21,18	21,82		23,22 B	30,18 A	35,87 A	32,37 A	
CV (%)		6,71			22,33			32,54			
Genótipos	0	6 dias			12 dias			18 dias			
		Doses de AIB (mg L^{-1})			Doses de AIB (mg L^{-1})			Doses de AIB (mg L^{-1})			
		0	3.000	6.000	9.000	Médias	0	3.000	6.000	9.000	Médias
G4		41,42	48,90	56,20	66,96	53,37 a	41,42	48,90	56,20	66,96	53,37 a
G15		38,47	45,73	56,67	65,75	51,73 a	38,47	45,73	56,67	65,75	51,73 a
G25		44,30	38,77	51,50	56,42	47,74 a	44,30	38,77	51,50	56,42	47,74 a
G28		40,08	40,90	36,60	37,55	38,80 b	40,08	40,90	36,60	37,55	38,80 b
G29		44,90	57,14	64,40	62,08	57,13 a	44,90	57,14	64,40	62,08	57,13 a
Médias		41,89 B	46,28 B	53,07 A	57,75 A		41,89 B	46,28 B	53,07 A	57,75 A	
CV (%)		15,56			15,56			15,56			

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha, e minúscula na coluna, não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade de erro. ^{NS} – não significativo pelo Teste F.

Foi verificado efeito significativo do tratamento de AIB nas avaliações realizadas aos 12 dias após a estaquia (Tabela 1), revelando um aumento da atividade da peroxidase com as doses de 6.000 e 9.000 mg L⁻¹, e aos 18 dias com todas as doses de AIB, o que evidencia uma indução de maior estresse provocado pela aplicação do fitorregulador.

Essa hipótese foi apontada por Santos (2011) e Hettwer (2013), ao constatar em que, para vários genótipos de erva-mate, houve maior queda de folhas e morte de estacas com o tratamento de AIB nas primeiras semanas de estaquia. Hartmann et al. (2002) corroboram com essa hipótese, ao verificarem que houve aumento de várias enzimas após o período de confecção das estacas, dentre elas a peroxidase, que tem sido utilizada como marcador da fase de indução do enraizamento.

A atividade da peroxidase, para todos os genótipos, variou significativamente no decorrer dos 18 dias da estaquia, sem ou com AIB (Tabela 2). A atividade não foi alterada ao comparar as folhas das estacas analisadas imediatamente após a coleta no erval e aos 6 dias após a estaquia. Porém, para todos os genótipos e doses de AIB foi constatado aos 12 dias significativo incremento da atividade da enzima, evidenciando um pico de maior estresse, reduzindo aos 18 dias, possivelmente em resposta a um processo de degradação da mesma. Ainda assim, para a maioria dos genótipos e doses de AIB a peroxidase se manteve em maior atividade aos 12 dias que aos 0 e 6 dias.

Tabela 2 – Variação até 18 dias após a estaquia na atividade da peroxidase em folhas de estacas de cinco genótipos de erva-mate, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS

Atividade da peroxidase nas folhas (μmol de $\text{H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ de proteína)				
Dias após a estaquia	Genótipo G4			
	Doses de AIB (mg L^{-1})			
	0	3.000	6.000	9.000
0*	23,54 b	23,54 c	23,54 c	23,54 b
6	20,54 b	21,09 c	25,70 c	26,76 b
12	41,42 a	48,90 a	56,20 a	66,96 a
18	13,50 c	29,88 b	42,04 b	30,83 b
CV (%)	12,70			
Genótipo G15				
0*	19,07 b	19,07 c	19,07 b	19,07 c
6	20,20 b	15,43 c	17,32 b	18,05 c
12	38,47 a	45,73 a	56,67 a	65,75 a
18	23,39 b	29,55 b	28,25 b	34,69 b
CV (%)	23,07			
Genótipo G25				
0*	13,87 c	13,87 b	13,87 c	13,87 c
6	9,19 c	13,45 b	19,80 c	20,84 c
12	44,30 a	38,77 a	51,50 a	56,42 a
18	29,74 b	26,23 a	34,69 b	32,90 b
CV (%)	29,15			
Genótipo G28				
0*	13,19 c	13,19 c	13,19 c	13,19 b
6	13,57 c	16,13 c	15,29 c	15,29 b
12	40,08 a	40,90 a	36,60 a	37,55 a
18	26,01 b	26,74 b	32,69 b	20,04 b
CV (%)	20,64			
Genótipo G29				
0*	23,92 b	23,92 b	23,92 b	23,92 b
6	25,86 b	27,55 b	26,30 b	28,17 b
12	44,90 a	57,14 a	64,40 a	62,08 a
18	34,45 a	33,50 b	51,60 a	43,61 a
CV (%)	41,32			

* Antes da estaquia (tempo 0) não houve tratamentos com AIB, sendo assumido o mesmo valor para a comparação da atividade da peroxidase no tempo.

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade de erro.

A influência constatada do tratamento com AIB na atividade da peroxidase encontra respaldo na citação de Pisa & Lima (2003), de que a enzima apresenta relação com processos de crescimento, diferenciação celular e mudanças morfogênicas, em resposta ao estresse, seja químico, físico ou biológico. Expostas a esses fatores, o aumento da atividade da peroxidase pode ser determinante na capacidade de adaptação das plantas, podendo ser utilizada como um marcador bioquímico de estresse. De acordo com Ferraz (2000) e Oliveira (2000), a peroxidase também está envolvida com a oxidação de fenóis, que caracteriza a deterioração de plantas.

O possível efeito negativo do AIB foi apontado por Hausman (1993), em enraizamento *in vitro* de álamo, ao verificar aumentos significativos na atividade da peroxidase na presença de auxina exógena. Zanol et al. (1997), ao estudar no escuro o uso do AIB no enraizamento *in vitro* de porta-enxerto de macieira verificaram que a ausência de AIB mostrou pequeno aumento na atividade da enzima, mas na presença os valores foram mais elevados.

A atividade da peroxidase nas hastes das estacas imediatamente após a coleta nas plantas diferiu significativamente entre genótipos. Aos 6 e 12 dias após a estaquia houve efeito de genótipos e doses de AIB, e aos 18 dias da interação genótipos x doses (Tabela 3).

Tabela 3 – Atividade da peroxidase em hastes de estacas de cinco genótipos de erva-mate coletadas antes (tempo 0) e aos 6, 12 e 18 dias após a estaquia, tratadas com doses de AIB. Passo Fundo, RS

		Atividade da peroxidase nas hastes ($\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg de proteína}$)											
		Tempo após a estaquia											
Genótipos	0	6 dias			12 dias			18 dias					
		Doses de AIB (mg L^{-1})			Doses de AIB (mg L^{-1})			Doses de AIB (mg L^{-1})					
	0	3.000	6.000	9.000	0	3.000	6.000	9.000	0	3.000	6.000	9.000	Médias
G4	7,76 a	5,28	5,32	6,36	7,10	6,01 b							
G15	7,87 a	4,47	6,10	6,10	7,23	5,98 b							
G25	5,83 b	5,36	6,84	7,20	7,41	6,76 a							
G28	5,26 b	6,30	7,02	7,30	7,49	7,03 a							
G29	6,00 b	6,66	6,00	7,15	7,65	6,80 a							
Médias	6,60	5,61 D	6,25 C	6,82 B	7,38 A								
CV (%)	12,12	8,92											
Genótipos	0	6 dias			12 dias			18 dias					
		Doses de AIB (mg L^{-1})			Doses de AIB (mg L^{-1})			Doses de AIB (mg L^{-1})					
	0	3.000	6.000	9.000	Médias	0	3.000	6.000	9.000	Médias			
G4	12,33 B	21,27	15,02	19,86	17,12 a	9,20 Aa	11,27 Aa	5,51 Ab	7,94 Aa	8,48			
G15	12,19	16,21	16,37	19,42	16,05 a	6,80 Ba	6,26 Ba	14,20 Aa	10,27 Aa	9,38			
G25	12,03	13,80	15,45	17,34	14,70 b	6,73 Aa	5,57 Aa	7,00 Ab	9,25 Aa	7,14			
G28	11,20	14,21	17,17	14,76	14,32 b	5,03 Aa	7,09 Aa	6,20 Ab	3,50 Ab	5,46			
G29	16,15	14,39	19,04	21,88	17,86 a	9,46 Aa	7,94 Aa	8,69 Ab	9,90 Aa	8,99			
Médias	12,33 B	15,02 A	19,86 A	21,27 A		7,44	7,62	8,32	8,17				
CV (%)	20,48	31,53											

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha, e minúscula na coluna, não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade de erro.

A atividade da peroxidase determinada nas hastes foi destacadamente menor que nas folhas, evidenciando um grau de estresse mais elevado ocorrendo nas folhas. Esse fato, por sua vez, talvez possa explicar a significativa ocorrência de queda de folhas em alguns genótipos, com posterior morte das estacas, observado por Santos (2009) e Hettwer (2013).

Imediatamente após a coleta das estacas foi verificada maior atividade da enzima no G15 e no G4 (Tabela 3), sendo que G4 já havia se destacado com os resultados obtidos nas folhas (Tabela 1). Aos 6 dias após a estaquia houve uma inversão, com G4 e G15 apresentando menor atividade da peroxidase, comportamento justificado, em parte, pelo maior aumento nos demais genótipos, que não diferiram entre si. Aos 12 dias, os genótipos G4 e G15 voltaram a apresentar superior atividade da peroxidase, como revelada antes da estaquia, juntamente com o G29, ressaltando que esse genótipo revelou maior atividade da peroxidase também nas folhas, em todas as determinações (Tabela 1).

Embora não verificado nas folhas, houve nas hastes, aos 6 dias, maior atividade da peroxidase com o aumento da dose de AIB. Aos 12 dias a peroxidase não diferiu entre as doses, mas foi superior à testemunha, sem AIB. Aos 18 dias, de modo geral, houve redução na atividade da peroxidase, e diferenças entre genótipos foram verificadas com 6.000 mg L^{-1} , destacando-se o G15 por manter maior atividade da enzima, e com 9.000 mg L^{-1} , quando o destaque foi a baixa atividade da peroxidase apresentada pelo G28 (Tabela 3). Nessa avaliação, apenas o genótipo G15 apresentou um comportamento diferenciado em relação ao uso ou não do AIB, com maior atividade

da peroxidase ao tratar as estacas com as doses mais elevadas de AIB (6.000 e 9.000 mg L⁻¹).

Da mesma forma que constado nas folhas, a atividade da enzima nas hastes das estacas de todos os genótipos variou significativamente no decorrer dos 18 dias de estaquia, sem ou com a utilização de AIB (Tabela 4). A atividade não foi alterada ao comparar as hastes imediatamente após a coleta no erval e aos 6 dias. Por sua vez, aos 12 dias foi constatado significativo incremento da atividade da enzima, ratificando a evidência de um pico de maior estresse, já mencionado na análise das folhas. Aos 18 dias, reproduzindo o comportamento observado nas folhas, houve redução da atividade da enzima, possivelmente em resposta ao processo de degradação da mesma. Porém, em relação à determinação aos 0 e 6 dias, diferentemente do observado nas folhas (Tabela 2), que se manteve superior, possivelmente em decorrência da maior atividade da peroxidase constatada no órgão vegetal, nas hastes não diferiu para a maioria dos genótipos e doses de AIB.

Os resultados demonstram, assim, pela variação na atividade da peroxidase nas primeiras semanas de estaquia, e resposta dos genótipos às doses de AIB, especialmente as mais elevadas, que de fato esse é um período de estresse bioquímico e determinante da sobrevivência e enraizamento das estacas de erva-mate. O sucesso do processo de estaquia deve variar dependendo da capacidade de cada genótipo e tipo de estaca utilizada para reagir às mudanças fisiológicas, somadas a outros fatores externos importantes, como a temperatura, a umidade e o substrato.

Tabela 4 – Variação até 18 dias após a estaquia na atividade da peroxidase em hastes de estacas dos genótipos de erva-mate, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS

Atividade da peroxidase nas hastes (μmol de $\text{H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ de proteína)				
Dias após a estaquia	Genótipo G4			
	Doses de AIB (mg L^{-1})			
	0	3.000	6.000	9.000
0*	7,76 b	7,76 c	7,76 b	7,76 b
6	5,28 b	5,32 c	6,36 b	7,10 b
12	12,33 a	21,27 a	15,02 a	19,86 a
18	9,20 b	11,27 b	5,51 b	7,94 b
CV (%)	26,47			
Genótipo G15				
0*	7,87 b	7,87 b	7,87 b	7,87 b
6	4,47 b	6,10 b	6,10 b	7,23 b
12	12,19 a	16,21 a	16,37 a	19,42 a
18	6,80 b	6,26 b	14,20 a	10,27 b
CV (%)	22,73			
Genótipo G25				
0*	5,83 b	5,83 b	5,83 b	5,83 c
6	5,36 b	6,84 b	7,20 b	7,41 b
12	12,03 a	13,80 a	15,45 a	17,34 a
18	6,73 b	5,57 b	7,00 b	9,25 b
CV (%)	16,80			
Genótipo G28				
0*	5,26 b	5,26 b	5,26 b	5,26 b
6	6,30 b	7,02 b	7,30 b	7,49 b
12	11,20 a	14,21 a	17,17 a	14,76 a
18	5,03 b	7,09 b	6,20 b	3,50 c
CV (%)	17,08			
Genótipo G29				
0*	6,00 b	6,00 b	6,00 b	6,00 b
6	6,66 b	6,00 b	7,15 b	7,65 b
12	16,15 a	14,39 a	19,04 a	21,88 a
18	9,46 b	7,94 b	8,69 b	9,90 b
CV (%)	21,84			

* Antes da estaquia (tempo 0) não houve tratamentos com AIB, sendo assumido o mesmo valor para a comparação da atividade da peroxidase no tempo. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade de erro.

3.2 Açúcares solúveis totais

A concentração de açúcares solúveis totais nas folhas diferiram significativamente entre genótipos antes da estaquia (tempo 0), e aos 6 e 12 dias após a estaquia. Não houve efeito significativo de doses de AIB ou da interação genótipos x doses de AIB (Tabela 5).

Na determinação quando as estacas foram retiradas das plantas matrizes (tempo 0), a concentração de açúcares nas folhas foi mais elevado nos genótipos G4 e G15. Após 6 dias o G15 manteve-se superior, não diferindo de G25. Aos 12 dias, diferentemente das análises anteriores, se destacaram, com significativo incremento, os genótipos G28 e G29, mantendo os genótipos G4, G15 e G25 níveis similares aos detectados aos 6 dias. Já aos 18 dias não houve diferenças significativas, com média de 95,57 mg de açúcares/g de massa fresca.

Os açúcares solúveis totais, para todos os genótipos, variaram significativamente no decorrer dos 18 dias após a estaquia, sem ou com a utilização de AIB (Tabela 6), apresentando as folhas teores significativamente mais elevados aos 18 dias. Os genótipos revelaram um comportamento diferenciado ao incremento de açúcares. Houve aumento dos açúcares já ao comparar as folhas após a coleta nas plantas e aos 6 dias após a estaquia, exceto nos genótipos G4 e G29. Entre 6 e 12 dias, aumentos significativos foram detectados apenas nos genótipos G28 e G29, e aos 18 dias as folhas das estacas de todos os genótipos, sem ou com AIB, apresentaram incrementos significativos.

Tabela 5 – Concentração de açúcares solúveis totais em folhas de estacas de cinco genótipos de erva-mate antes (tempo 0) e aos 6, 12 e 18 dias após a estaquia, tratadas com doses de AIB. Passo Fundo, RS

Genótipos	Açúcares solúveis totais em folhas (mg de açúcares/g de massa fresca)										
	Tempo após a estaquia										
	0			6 dias			12 dias			18 dias	
	Doses de AIB (mg L ⁻¹)									Médias	
	0	3.000	6.000	9.000	3.000	6.000	9.000	3.000	6.000	9.000	Médias
G4	34,84 a	47,04	46,98	45,77	46,30	46,44 b	47,04	46,98	45,77	46,30	46,44 b
G15	36,00 a	54,45	53,37	53,04	51,66	53,13 a	54,45	53,37	53,04	51,66	53,13 a
G25	31,11 b	50,20	53,19	54,90	48,04	51,59 a	50,20	53,19	54,90	48,04	51,59 a
G28	28,10 b	45,00	48,40	49,63	51,70	48,69 b	45,00	48,40	49,63	51,70	48,69 b
G29	32,43 b	46,35	45,30	49,60	43,45	45,43 b	46,35	45,30	49,60	43,45	45,43 b
Médias	32,49	48,62 ^{NS}	49,39	50,00	48,23	48,62 ^{NS}	49,39	50,00	48,23	48,23	48,23
CV(%)	7,52										13,75
	Doses de AIB (mg L ⁻¹)									Médias	
	0	3.000	6.000	9.000	3.000	6.000	9.000	3.000	6.000	9.000	Médias
G4	44,70	53,22	41,18	34,36	43,36 b	43,36 b	44,70	53,22	41,18	34,36	43,36 b
G15	62,60	57,57	50,23	31,04	50,34 b	50,34 b	62,60	57,57	50,23	31,04	50,34 b
G25	57,20	64,51	54,30	55,41	57,86 b	57,86 b	57,20	64,51	54,30	55,41	57,86 b
G28	80,30	72,65	72,95	73,19	74,79 a	74,79 a	80,30	72,65	72,95	73,19	74,79 a
G29	79,50	75,06	71,94	64,09	72,64 a	72,64 a	79,50	75,06	71,94	64,09	72,64 a
Médias	64,86 ^{NS}	64,60	58,12	51,62	64,60	64,60	64,86 ^{NS}	64,60	58,12	51,62	64,60
CV(%)	26,45						26,45				21,40

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade de erro. ^{NSNS} - não significativo pelo Teste F.

Tabela 6 – Variação até 18 dias após a estaquia na concentração de açúcares solúveis totais em folhas de estacas de cinco genótipos de erva-mate, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS

Açúcares solúveis totais em folhas (mg de açúcares/g de massa fresca)				
Dias após a estaquia	Genótipo G4			
	Doses de AIB (mg L ⁻¹)			
	0	3.000	6.000	9.000
0*	34,84 b	34,84 b	34,84 b	34,84 b
6	47,04 b	46,98 b	45,77 b	46,30 b
12	47,70 b	53,22 b	41,18 b	34,36 b
18	95,54 a	99,78 a	67,07 b	87,99 a
CV (%)	21,82			
Genótipo G15				
0*	36,00 c	36,00 c	36,00 c	36,00 c
6	54,45 b	53,37 b	53,04 b	51,66 b
12	62,60 b	57,57 b	50,23 b	31,04 b
18	106,11 a	91,99 a	105,69 a	80,38 a
CV (%)	9,96			
Genótipo G25				
0*	31,11 c	31,11 c	31,11 c	31,11 c
6	50,20 b	53,19 b	54,90 b	48,04 b
12	57,20 b	64,51 b	54,30 b	55,41 b
18	98,08 a	98,11 a	85,60 a	78,56 a
CV (%)	16,01			
Genótipo G28				
0*	28,10 c	28,10 d	28,10 d	28,10 d
6	45,00 c	48,40 c	49,63 c	51,70 c
12	80,30 b	72,65 b	72,95 b	73,19 b
18	118,40 a	112,33 a	104,70 a	116,31 a
CV (%)	15,53			
Genótipo G29				
0*	32,43 b	32,43 c	32,43 c	32,43 c
6	46,35 b	45,30 c	49,60 c	43,45 c
12	79,50 a	75,06 b	71,94 b	64,09 b
18	89,24 a	100,61 a	101,53 a	86,82 a
CV (%)	23,95			

* Antes da estaquia (tempo 0) não houve tratamento com AIB, sendo assumido o mesmo valor para comparação do teor de açúcares solúveis totais no tempo. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade de erro.

Mudanças nos teores de carboidrato podem ser explicadas pela demanda e fornecimento causados pela relação fonte/dreno (GARCÍA-LUIZ et al., 2002). A sacarose é o principal substrato respiratório da maioria das plantas superiores e, por ser móvel, mantém as plantas ou porções do vegetal vivo e ativo, tendo um papel fundamental não só como substrato, para sustentar o crescimento heterotrófico dos tecidos drenos, mas também como importante molécula sinalizadora que regula o metabolismo, tanto na fonte quanto no dreno, em condições de estresse (ROITSCH, 1999). O acúmulo de sacarose varia de acordo com o genótipo, estágio de desenvolvimento da planta e do ambiente em que é cultivada. A planta responde ao ambiente através da transdução de sinais que coordenam o seu desenvolvimento, além do acúmulo de sacarose (GROF & CAMPBELL, 2001; MOORE, 2005).

Nas hastes das estacas, a concentração de açúcares diferiram significativamente entre genótipos apenas aos 6 dias após a estaquia, ocorrendo interação entre genótipos x doses de AIB aos 12 dias (Tabela 7). As concentrações iniciais (tempo 0) detectadas nas hastes não diferiram significativamente, diferentemente do observado nas folhas (Tabela 5). Aos seis dias apenas o genótipo 29 apresentou menor média, não diferindo os demais genótipos entre si. Os tratamentos de AIB não afetaram os resultados. Aos 12 dias, o G15, na dose de 9.000 mg L⁻¹ de AIB, e o G29, na dose de 3.000 mg L⁻¹, destacaram-se com concentrações mais elevadas de açúcares. Aos 18 dias não houve efeitos significativos dos tratamentos.

Tabela 7 – Concentração de açúcares solúveis totais em hastes de estacas de cinco genótipos de erva-mate antes (tempo 0) e aos 6, 12 e 18 dias após a estaquia, tratadas com doses de AIB. Passo Fundo, RS

Açúcares solúveis totais em hastes (mg de açúcares/g de massa fresca)												
Tempo após a estaquia												
Genótipos	0			6 dias			12 dias			18 dias		
	Doses de AIB (mg L ⁻¹)									Médias	Médias	
	0	3.000	6.000	9.000	0	3.000	6.000	9.000	0			3.000
G4	31,53 ^{NS}	44,90	48,28	48,37	47,71	47,31 a	31,53 ^{NS}	44,90	48,28	48,37	47,71	47,31 a
G15	35,09	53,34	49,21	48,19	47,46	49,80 a	35,09	53,34	49,21	48,19	47,46	49,80 a
G25	31,82	47,51	52,25	54,50	57,37	52,88 a	31,82	47,51	52,25	54,50	57,37	52,88 a
G28	28,10	48,36	48,46	47,86	47,09	47,94 a	28,10	48,36	48,46	47,86	47,09	47,94 a
G29	28,39	39,96	46,29	47,27	41,36	43,72 b	28,39	39,96	46,29	47,27	41,36	43,72 b
Médias	31,11	46,81 ^{NS}	48,90	48,40	48,20		31,11	46,81 ^{NS}	48,90	48,40	48,20	
CV(%)	9,90			13,70			9,90			13,70		
Genótipos	12 dias			18 dias			12 dias			18 dias		
	Doses de AIB (mg L ⁻¹)									Médias	Médias	
	0	3.000	6.000	9.000	0	3.000	6.000	9.000	0			3.000
G4	69,11 Aa	57,87 Ab	50,04 Aa	46,80 Ab	55,95	69,11 Aa	57,87 Ab	50,04 Aa	46,80 Ab	55,95	69,11 Aa	57,87 Ab
G15	54,34 Ba	55,21 Bb	53,32 Ba	85,47 Aa	62,08	54,34 Ba	55,21 Bb	53,32 Ba	85,47 Aa	62,08	54,34 Ba	55,21 Bb
G25	61,45 Aa	57,15 Ab	60,11 Aa	61,70 Ab	60,11	61,45 Aa	57,15 Ab	60,11 Aa	61,70 Ab	60,11	61,45 Aa	57,15 Ab
G28	61,12 Aa	58,18 Ab	61,75 Aa	58,66 Ab	59,93	61,12 Aa	58,18 Ab	61,75 Aa	58,66 Ab	59,93	61,12 Aa	58,18 Ab
G29	61,40 Aa	84,41 Aa	71,55 Aa	66,98 Ab	71,08	61,40 Aa	84,41 Aa	71,55 Aa	66,98 Ab	71,08	61,40 Aa	84,41 Aa
Médias	61,48	62,56	59,35	63,93		61,48	62,56	59,35	63,93		61,48	62,56
CV(%)	20,31			17,45			20,31		17,45		20,31	

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha, e minúscula na coluna, não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade de erro. ^{NS/ns} – não significativo pelo Teste F.

No decorrer do período avaliado, os açúcares tiveram incremento significativo nas hastes de todos os genótipos, sem ou com a utilização de AIB (Tabela 8). Foram detectados aumentos iniciais dos níveis ao comparar as hastes no tempo 0 e aos 6 dias, exceto nos genótipos G4 e G29, mesmo comportamento observado nas folhas. Entre 6 e 12 dias, de maneira geral, não houve aumentos significativos, exceto no G29, sem e com AIB, no G4 e G25 sem AIB, e no G15 com 9.000 mg L⁻¹. Os açúcares tiveram novo aumento entre 12 e 18 dias, alcançando concentrações mais elevadas em todos os genótipos, sem ou com AIB. O G29, que havia apresentado incremento já aos 12 dias, revelou aumento significativo apenas quando tratadas as estacas com 3.000 mg L⁻¹ de AIB.

Possivelmente, o incremento de açúcares nas folhas e hastes das estacas decorre do acréscimo de fotoassimilados produzidos pela fotossíntese das folhas mantidas durante o processo de estaquia, combinado com a reduzida mobilidade, uma vez que as estacas, aos 18 dias, não apresentavam enraizamento ou brotação, ou seja, drenos que poderiam justificar uma possível maior utilização dos açúcares. Conforme Fachinello et al. (2005), os carboidratos são fonte de carbono para a biossíntese dos ácidos nucleicos e proteínas para a formação de raízes.

Tabela 8 – Variação até 18 dias após a estaquia na concentração de açúcares solúveis totais em hastes de estacas de cinco genótipos de erva-mate, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS.

Açúcares solúveis totais em hastes (mg de açúcares/g de massa fresca)				
Dias após a estaquia	Genótipo G4			
	Doses de AIB (mg L ⁻¹)			
	0	3.000	6.000	9.000
0*	31,53 d	31,53 d	31,53 c	31,53 c
6	44,90 c	48,28 c	48,37 b	47,71 b
12	69,11 b	57,87 b	50,04 b	46,80 b
18	97,76 a	102,45 a	84,45 a	76,84 a
CV (%)	9,47			
Genótipo G15				
0*	35,09 b	35,09 b	35,09 b	35,09 c
6	53,34 b	49,21 b	48,19 b	47,46 c
12	54,34 b	55,21 b	53,32 b	85,47 b
18	83,64 a	91,44 a	87,23 a	101,88 a
CV (%)	18,87			
Genótipo G25				
0*	31,82 d	31,82 c	31,82 c	31,82 c
6	47,51 c	52,25 b	54,50 b	57,37 b
12	61,45 b	57,15 b	60,11 b	61,70 b
18	114,63 a	96,68 a	92,36 a	104,47 a
CV (%)	11,78			
Genótipo G28				
0*	28,10 c	28,10 c	28,10 c	28,10 c
6	48,36 b	48,46 b	47,86 b	47,09 b
12	61,12 b	58,18 b	61,75 b	58,66 b
18	108,45 a	86,45 a	93,92 a	101,69 a
CV (%)	15,53			
Genótipo G29				
0*	28,39 b	28,39 c	28,39 b	28,39 b
6	39,96 b	46,29 c	47,27 b	41,36 b
12	61,40 a	84,41 b	71,55 a	66,98 a
18	79,28 a	109,78 a	107,07 a	97,26 a
CV (%)	27,42			

* Antes da estaquia (tempo 0) não houve tratamentos com AIB, sendo assumido o mesmo valor para do teor de açúcares solúveis totais no tempo.

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade de erro.

Ainda, as moléculas de açúcares solúveis podem exercer sinais e respostas de defesa que são úteis para as plantas, por controlar o nível de espécies reativas de oxigênio (EROs). Consequentemente, os açúcares solúveis podem regular a defesa contra vários estresses produtores de EROs (COUÉE et al., 2006). A erva-mate é, reconhecidamente, uma espécie cujo material vegetal é altamente suscetível à oxidação, em especial quando as estacas são destacadas da planta matriz.

Portanto, é possível inferir que genótipos capazes de promover maior incremento de açúcares pelas folhas durante todo o período de estaquia possam se apresentar, também, com condições mais favoráveis ao enraizamento, dependendo da combinação com outros fatores determinantes do enraizamento.

Estabelecendo uma relação com o comportamento dos genótipos no Capítulo I, verifica-se que os genótipos G4 e G28 se destacaram por apresentar maior retenção foliar, sobrevivência e enraizamento, enquanto os demais tiveram baixo desempenho. Ainda, os resultados demonstraram que o período de maior queda de folhas e sobrevivência se estendeu, dependendo do genótipo e uso ou não de AIB, até a quarta ou quinta semana. Assim, considerando que na presente pesquisa os genótipos não diferiram quanto aos níveis de açúcares (18 dias), mas para todos houve incremento significativo, o fator diferencial a ser ressaltado parece ser a capacidade de retenção das folhas pelo período mais prolongado possível, dando continuidade à produção de fotoassimilados e outras substâncias envolvidas no estímulo ou prejuízo ao processo de enraizamento.

Importante destacar que o uso do sistema de irrigação por nebulização intermitente objetiva, justamente, buscar um ajustamento osmótico, evitando a desidratação, auxiliando na manutenção das folhas nas estacas pelo maior período de tempo, visando maior sucesso no enraizamento.

3.3 Proteínas solúveis

As concentrações de proteínas nas folhas variaram significativamente entre os genótipos aos 6 e 12 dias após a estaquia, sem efeito dos tratamentos de AIB, e aos 18 dias houve interação significativa entre genótipos x doses de AIB (Tabela 9). Antes da estaquia (tempo 0) as folhas apresentaram teores semelhantes de proteína, com média de 69,36 mg de proteína/g de massa fresca. Aos 6 dias houve elevação nos níveis, destacando-se os genótipos G15, G25 e G28, os quais mantiveram-se com maior concentração também aos 12 dias, com exceção do G25.

Aos 18 dias houve interação entre os tratamentos, de modo que G4, nas doses de 3.000 e 6.000 mg L⁻¹ de AIB, e os genótipos G28 e G29, com 9.000 mg L⁻¹, apresentaram teores mais reduzidos de proteína. Sem AIB, G4 e G28 revelaram concentrações mais elevadas, enquanto com 6.000 mg L⁻¹ destacaram-se os genótipos G15 e G28 (Tabela 9).

Tabela 9 – Concentração de proteínas solúveis em folhas de estacas de cinco genótipos de erva-mate antes (tempo 0) e aos 6, 12 e 18 dias após a estaquia, tratadas com doses de AIB. Passo Fundo, RS

		Proteínas solúveis nas folhas (mg de proteínas/g de massa fresca)			
		Tempo após a estaquia			
Genótipos	0	6 dias			Médias
		Doses de AIB (mg L ⁻¹)			
	0	3.000	6.000	9.000	
G4	67,68 ^{NS}	108,26	101,32	104,0	99,14
G15	74,98	128,42	127,18	120,05	113,86
G25	68,71	109,21	116,27	114,30	117,09
G28	62,20	114,80	120,10	116,09	114,00
G29	70,20	102,12	98,73	115,35	105,38
Médias	69,36	112,57 ^{NS}	112,72	113,96	109,89
CV (%)	6,71				13,75
Genótipos	12 dias	18 dias			Médias
		Doses de AIB (mg L ⁻¹)			
	0	3.000	6.000	9.000	
G4	89,58	77,01	83,60	82,43	83,15 b
G15	89,29	104,46	101,79	90,68	96,55 a
G25	81,45	98,39	90,21	83,94	88,50 b
G28	99,06	94,80	92,94	99,82	95,15 a
G29	80,80	82,96	86,43	75,27	81,36 b
Médias	88,03 ^{NS}	91,52	90,99	85,23	
CV (%)	9,88				14,20

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha, e minúscula na coluna, não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade de erro. ^{NS/ns} – não significativo pelo Teste F.

As concentrações de proteína, para todos os genótipos, variaram significativamente no decorrer dos 18 dias iniciais de estaquia, sem ou com a utilização de AIB (Tabela 10). Verifica-se que houve um pico de concentração de proteínas 6 dias após a estaquia, com posterior processo de degradação nos 12 dias seguintes, alcançando, para a maioria dos tratamentos, níveis semelhantes aos determinados nas folhas quando ainda na planta (tempo 0).

O aumento das concentrações 6 dias após a estaquia pode ser justificado pela reação de adaptação ao estresse, conforme refere-se Pisa & Lima (2003). Por sua vez, o posterior decréscimo provavelmente decorreu da condição de elevação do estresse, evidenciada também pela maior atividade da peroxidase (Tabela 2), que apresentou pico aos 12 dias após a estaquia. Conforme Santos & Vidus (2014), em condições de estresse ocorre aumento da atividade de enzimas proteolíticas, que quebram as proteínas de reserva. O decréscimo de proteínas pode refletir em retardamento na síntese proteica ou aceleração na degradação, aumentando a quantidade de aminoácidos livres ou inibição da incorporação destes aminoácidos nas proteínas (PISA & LIMA, 2003). RIBAS (1997) recomenda que a coleta dos ramos para a estaquia seja executada durante as épocas do ano em que os teores são mais altos.

Também a variabilidade entre genótipos em responder aos tratamentos com AIB, alterando a reação a uma condição de maior ou menor estresse, parece justificar as variações observadas nas concentrações de proteínas aos 18 dias de estaquia.

Tabela 10 – Variação até 18 dias após a estaquia na concentração de proteínas solúveis em folhas de estacas dos genótipos de erva-mate, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS

Proteínas solúveis em folhas (mg de proteínas/g de massa fresca)				
Dias após a estaquia	Genótipo G4			
	Doses de AIB (mg L ⁻¹)			
	0	3.000	6.000	9.000
0*	67,68 c	67,68 c	67,68 b	67,68 c
6	108,26 a	101,32 a	104,00 a	99,14 a
12	89,58 b	77,01 b	83,60 b	82,43 b
18	89,23 b	66,08 c	58,54 c	72,19 b
CV (%)	25,57			
Genótipo G15				
0*	74,98 c	74,98 c	74,98 c	74,98 c
6	128,42 a	127,18 a	120,05 a	113,86 a
12	89,29 b	104,46 b	101,79 b	90,68 b
18	65,23 c	85,55 c	82,71 c	76,07 c
CV (%)	7,49			
Genótipo G25				
0*	68,71 b	68,71 c	68,71 c	68,71 b
6	109,21 a	116,27 a	114,30 a	117,09 a
12	81,45 b	98,39 b	90,21 b	83,94 b
18	74,73 b	80,82 c	69,00 c	79,76 b
CV (%)	10,69			
Genótipo G28				
0*	62,20 d	62,20 c	62,20 d	62,20 c
6	114,80 a	120,10 a	116,09 a	114,00 a
12	99,06 b	94,80 b	92,94 b	99,82 b
18	85,64 c	87,66 b	79,43 c	56,10 c
CV (%)	8,99			
Genótipo G29				
0*	70,20 c	70,20 c	70,20 c	70,20 b
6	102,12 a	98,73 a	115,35 a	105,38 a
12	80,80 b	82,96 b	86,43 b	75,27 b
18	70,86 c	76,92 b	61,30 c	34,16 c
CV (%)	6,76			

* Antes da estaquia (tempo 0) não houve tratamentos com AIB, sendo assumido o mesmo valor para comparação da atividade da peroxidase no tempo. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade de erro.

Nas hastes, as concentrações de proteína foram considerados bastante semelhantes aos obtidos nas folhas, diferindo significativamente entre genótipos por ocasião da coleta (tempo 0), e aos 6 e 12 dias, sem influência dos tratamentos de AIB. Aos 18 dias houve interação significativa entre os tratamentos (Tabela 11). Na coleta das estacas, apenas o G29 mostrou-se estatisticamente inferior aos demais. Aos 6 dias, como ocorreu nas folhas, houve significativa elevação dos teores de proteínas, com destaque para G25 e G28, mantendo-se aos 12 o G28 com as maiores concentrações, seguido de G25 e G29. Já aos 18 dias, o genótipo G28 destacou-se, sem ou com o tratamento com doses de AIB, pelos maiores teores de proteínas, não diferindo de G29 quando tratado com 6.000 e 9.000 mg L⁻¹. O G4, na dose de 3.000 mg L⁻¹, apresentou a menor concentração.

Demonstra-se, assim, mais uma vez, a variabilidade entre genótipos na resposta ao uso do AIB, proporcionando maior ou menor estresse em função da concentração empregada, se considerar as proteínas um indicador bioquímico.

Da mesma forma que constatado nas folhas, a concentração de proteínas nas hastes das estacas, em todos os genótipos, sem ou com o emprego de AIB, variou significativamente no decorrer dos 18 dias avaliados (Tabela 12). Houve um pico de elevação de proteínas 6 dias após a estaquia, reduzindo aos 12 dias e, no caso dos genótipos G4 e G25, com decréscimo significativo também aos 18 dias, em relação aos 12 dias.

Tabela 11 – Concentração de proteínas solúveis em hastes de estacas de cinco genótipos de erva-mate antes (tempo 0) e aos 6, 12 e 18 dias após a estaquia, tratadas com doses de AIB. Passo Fundo, RS

Genótipos	Concentração de proteínas em hastes (mg de proteínas/g de massa fresca)						
	Tempo após a estaquia						
	0		6 dias			18 dias	
	Doses de AIB (mg L ⁻¹)						Médias
	0	3.000	6.000	9.000	9.000	9.000	9.000
G4	69,76 a	103,53	101,60	106,30	106,03	104,4 b	104,4 b
G15	70,20 a	111,10	105,73	108,43	107,70	108,2 b	108,2 b
G25	69,38 a	117,13	118,33	119,20	109,90	116,1 a	116,1 a
G28	69,84 a	108,80	113,16	112,60	110,60	111,3 a	111,3 a
G29	60,80 b	92,20	106,10	106,60	91,20	100,7 b	100,7 b
Médias	67,99	107,95 ^{NS}	108,98	110,61	105,08		
CV (%)	3,56			11,81			
Genótipos	Concentração de proteínas em hastes (mg de proteínas/g de massa fresca)						
	Tempo após a estaquia						
	12 dias		18 dias			18 dias	
	Doses de AIB (mg L ⁻¹)						Médias
	0	3.000	6.000	9.000	9.000	9.000	9.000
G4	81,00	74,22	73,29	67,32	73,96 c	50,87 Ab	36,30 Bc
G15	78,39	76,07	76,80	72,66	75,98 c	68,88 Ab	69,18 Ab
G25	80,91	78,00	81,15	78,92	79,75 b	64,44 Ab	70,99 Ab
G28	90,46	89,02	83,41	80,73	85,91 a	82,68 Aa	86,15 Aa
G29	73,96	76,53	84,26	80,33	78,77 b	63,68 Ab	62,83 Ab
Médias	80,94 ^{NS}	78,76	79,78	76,00	78,77 b	66,11	65,09
CV (%)	6,15			15,63			

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha, e minúscula na coluna, não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade de erro. ^{NS} – não significativo pelo Teste F.

Tabela 12 – Variação até 18 dias após a estaquia na concentração de proteínas em hastes de estacas dos genótipos de erva-mate, tratadas com diferentes doses de AIB. Passo Fundo, RS

Proteínas solúveis em hastes (mg de proteínas/g de massa fresca)				
Dias após a estaquia	Genótipo G4			
	Doses de AIB (mg L ⁻¹)			
	0	3.000	6.000	9.000
0*	69,76 c	69,76 b	69,76 b	69,76 b
6	103,53 a	101,60 a	106,30 a	106,03 a
12	81,00 b	74,22 b	73,29 b	67,32 b
18	50,87 d	36,30 c	56,97 c	67,56 c
CV (%)	22,80			
Genótipo G15				
0*	70,20 b	70,20 b	70,20 b	70,20 b
6	111,10 a	105,73 a	108,43 a	107,70 a
12	78,39 b	76,07 b	76,80 b	72,66 b
18	68,88 b	69,18 b	61,80 c	68,99 b
CV (%)	7,73			
Genótipo G25				
0*	69,38 c	69,38 b	69,38 c	69,38 c
6	117,13 a	118,33 a	119,20 a	109,90 a
12	80,91 b	78,00 b	81,15 b	78,92 b
18	64,44 c	70,99 b	64,33 c	69,32 c
CV (%)	29,15			
Genótipo G28				
0*	69,84 c	69,84 c	69,84 c	69,84 b
6	108,80 a	113,16 a	112,60 a	110,60 a
12	90,46 b	89,02 b	83,41 b	80,73 b
18	82,68 b	86,15 b	88,17 b	81,74 b
CV (%)	7,80			
Genótipo G29				
0*	60,80 b	60,80 b	60,80 c	60,80 b
6	92,20 a	106,10 a	106,60 a	91,20 a
12	73,96 b	76,53 b	84,26 b	80,33 a
18	63,68 b	62,83 b	74,96 b	77,53 a
CV (%)	23,95			

* Antes da estaquia (tempo 0) não houve tratamentos com AIB, sendo assumido o mesmo valor para comparação da atividade da peroxidase no tempo.

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade de erro.

As variações verificadas encontram sustentação nas citações de autores como Viestra (1993), que afirma que as proteínas são constantemente degradadas e restabelecidas, sendo essencial às plantas a reutilização de aminoácidos, alternando o conteúdo protéico durante o desenvolvimento, a fim de se adaptar a novas condições ambientais. Também Oliveira neto (2006) cita que o estresse em plantas pode diminuir o teor de proteínas solúveis totais, relacionado com a capacidade da planta para enfrentar um ambiente desfavorável ao seu desenvolvimento, variando de espécie para espécie. Assim sendo, considerando que a erva-mate é multiplicada por sementes, é possível supor que uma condição estressante para um genótipo pode não ser para outro genótipo.

A síntese de novas proteínas acarreta mudanças morfológicas e bioquímicas durante as fases de crescimento e desenvolvimento, portanto, altos níveis de proteína podem estar relacionados à divisão mitótica (GUTMANN et al. 1996; SILVEIRA et al. 2004).

As variações nas concentrações de proteínas, bem como de açúcares e, principalmente, da atividade da peroxidase, ratificam a hipótese de que as estacas se submetem a um período inicial de elevado estresse, decorrente da retirada das plantas matrizes, passando pela fase de preparo da estaca, o ambiente de estaquia e, no caso desta pesquisa, também pelo tratamento com AIB, regulador que possui a propriedade de melhorar o enraizamento, mas que pode causar, dependendo do genótipo de erva-mate, maior queda de folhas e mortalidade das estacas, especialmente nas primeiras semanas. Denota-se, assim, a importância da escolha de plantas matrizes

superiores para a produção de mudas de erva-mate, tendo em vista de que o estresse ocasionado em estacas pode prejudicar o sucesso da técnica de estaquia.

4 CONCLUSÕES

a) No erval, os segmentos apicais dos ramos apresentam atividade da peroxidase, concentrações de açúcares solúveis totais e de proteínas solúveis que diferem entre genótipos, com incremento nas primeiras semanas de estaquia.

b) Nas primeiras semanas de estaquia (18 dias) a elevação da concentração de açúcares solúveis totais foi contínua, porém de proteínas foi detectada aos 6 dias, e da atividade da peroxidase aos 12 dias, revelando que se trata de um período de elevado estresse, podendo ser determinante na sobrevivência, retenção foliar e posterior enraizamento.

c) A atividade da peroxidase nas folhas é destacadamente maior que nas hastes, evidenciando que o grau de estresse é mais elevado nas folhas.

d) Alterações na atividade da peroxidase e da concentração de proteínas evidenciam que, dependendo do genótipo e dose, o uso do ácido indolbutírico (AIB) pode propiciar estresse ou efeito fitotóxico.

CAPITULO III

DESENVOLVIMENTO DE MUDAS DE ERVA-MATE CAMBONA 4 PRODUZIDAS POR ESTAQUIA

Valesca Franciele Joana Mello Hettwer⁴

RESUMO – Na implantação de ervais comerciais têm sido utilizadas mudas de erva-mate multiplicadas a partir de sementes. A propagação por estaquia é uma alternativa para a obtenção de ervais uniformes, porém há dúvidas entre viveiristas e produtores quanto ao desenvolvimento das plantas no campo. A pesquisa teve por objetivo avaliar o desenvolvimento, após o plantio no campo, de mudas obtidas por estaquia de 13 genótipos de erva-mate *Cambona 4*, estabelecendo uma comparação com mudas obtidas a partir de sementes. O plantio foi realizado no espaçamento de 2,0 m x 4,0 m. A avaliação da altura e diâmetro basal do caule foi conduzida de novembro/2013 (plantio) a julho/2015 (600 dias). Os resultados demonstraram que o desenvolvimento das mudas multiplicadas por estaquia varia entre genótipos, e que o crescimento dos melhores genótipos foi similar ou superior às mudas propagadas a partir de sementes, demonstrando a plena viabilidade técnica da clonagem na produção comercial de mudas. Porém, considerando a variabilidade existente, o sucesso da

⁴Bióloga, doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAgro), Área de Concentração em Produção Vegetal, da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da Universidade de Passo Fundo (UPF).

tecnologia depende de prévia seleção de matrizes superiores, que apresentem alta produtividade e qualidade da matéria prima, satisfatório potencial de enraizamento e elevado crescimento no campo.

Palavras-chave: Altura, crescimento, diâmetro, mudas, *Ilex paraguariensis* St Hil.

SEEDLINGS DEVELOPMENT YERBA MATE *CAMBONA 4* PRODUCED BY CUTTING

ABSTRACT – In the implementation of commercial herbal fields, yerba mate seedlings multiplied from seed have been used. Propagation by cuttings is an alternative for obtaining uniform herbal, but there are doubts among nurserymen and producers in the development of plants in the field. The research aimed at evaluating the development after planting in the field, seedlings from cuttings of 13 yerba mate genotypes *Cambona 4*, establishing a comparison with seedlings obtained from seeds. Planting was carried out in spacing of 2.0 m x 4.0 m. The evaluation of height and basal stem diameter was conducted in November/2013 (planting) to July/2015 (600 days). The results showed that the development of seedlings multiplied by cuttings varies between genotypes, and the growth of the best genotypes were similar or superior to the seedlings resulting from seeds, demonstrating the full technical feasibility of cloning in the commercial production of seedlings. However, considering the variability, the success of the technology depends on previous

selection of superior original trees, which have high productivity and quality of raw material, satisfactory rooting potential and high growth in the field.

Key words: Height, growth, diameter, seedling, *Ilex paraguariensis* St. Hil.

1 INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) é uma espécie arbórea nativa importante para a Região Sul do Brasil, sob os pontos de vista cultural, ambiental, medicinal e econômico, produzida, basicamente, em pequenas propriedades. A exploração da erva-mate se dá por extrativismo, a partir de plantas nativas conservadas nas propriedades rurais, ou em ervais implantados, cujo produto é comercialmente denominado de erva-mate cultivada.

Após um período de desvalorização da erva-mate, o momento é de grande demanda, representando ganhos importantes para os produtores rurais. Neste contexto, surge a necessidade da geração e adoção de novas tecnologias, visando o aumento da produtividade. De acordo com Medrado & Sturion (2005), mudas de qualidade representam o melhor insumo para o estabelecimento de um bom plantio de erva-mate.

Os cultivos têm sido implantados com mudas produzidas a partir de sementes, muitas vezes obtidas de matrizes não selecionadas agronomicamente, o que pode comprometer o potencial produtivo e a qualidade da matéria-prima. Além disso, o fato da espécie ser dioica,

ou seja, as plantas possuem apenas flores femininas ou masculinas, exige a polinização cruzada para a produção de frutos e sementes. Consequentemente, a combinação e segregação genética resultam em variabilidade das características fenotípicas, potencial produtivo, vigor de crescimento, qualidade das folhas para a indústria, dentre outras características. Agrega-se a esses problemas a necessidade da estratificação das sementes, para resolver problemas de embrião imaturo, bem como variável e baixa taxa de germinação.

Para implantar ervais com características idênticas às matrizes selecionadas é necessário o emprego de uma técnica de propagação vegetativa, destacando-se a estaquia pelo seu rendimento e menor custo. Porém, é necessário sanar dúvidas que permanecem entre produtores e pesquisadores quanto ao desenvolvimento no campo de mudas obtidas por estaquia. Os produtores rurais e viveiristas somente serão estimulados a aderir ao emprego da estaquia se o crescimento das mudas for semelhante ou melhor que as originadas de sementes.

Necessário se faz, portanto, selecionar plantas matrizes com elevada produtividade e qualidade da matéria-prima, e que respondam positivamente quanto à capacidade de multiplicação por estaquia e posterior desenvolvimento no campo.

O objetivo desse trabalho foi avaliar o desenvolvimento, após o plantio no campo, de mudas obtidas por estaquia de diferentes genótipos da erva-mate *Cambona 4*, estabelecendo uma comparação com mudas obtidas a partir de sementes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Centro de Extensão e Pesquisa Agropecuária (Cepagro) da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAMV) da UPF, localizado no município de Passo Fundo, RS. Segundo a classificação climática de Köppen, o clima da região é do tipo Cfa, úmido em todas as estações do ano, com chuvas bem distribuídas e verão quente (KUINCHTNER & BURIOL, 2001). De acordo com as normais climatológicas (1961-1990) registradas pelo Laboratório de Agrometeorologia da Embrapa Trigo de Passo Fundo, RS, a temperatura média anual do município é de 17,7 °C, com média máxima de 23,6 °C e média mínima de 13,2 °C. A precipitação média anual é de 1.800 mm (EMBRAPA, 2013). O solo é classificado como Latossolo Vermelho Distrófico húmico (Unidade de Passo Fundo) (STRECK et al., 2008). Os dados de temperatura e precipitação média foram obtidos junto à Embrapa Trigo (2016), localizada cerca de 1.000 m da área de cultivo (Apêndices 1, 2, 3, 4, 5 e 6).

Foram avaliadas plantas clonadas por estaquia de 13 genótipos de *Cambona 4*, pré-selecionadas por Hettwer (2013), comparando com mudas também de *Cambona 4* produzidas a partir de sementes. As mudas foram, depois de obtidas por estaquia, transplantadas para tubetes com capacidade de 140 cm³ de substrato comercial (Plantmax®). O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições e uma planta por parcela. Na Figura 1 é apresentada uma vista geral do erval estabelecido.

O preparo do solo foi realizado mediante subsolagem e lavração, para a descompactação, incorporação da adubação recomendada pela análise de solo e o bom desenvolvimento das raízes. O plantio foi realizado no espaçamento de 2,0 m x 4,0 m.



Figura 1– Vista da coleção de genótipos de erva-mate *Cambona 4*, com mudas multiplicadas por estaquia e por semente, em julho de 2015. Passo Fundo, RS, 2015.

A avaliação do desenvolvimento das plantas foi conduzida de final de novembro de 2013 (plantio) a julho de 2015 (600 dias), mediante a determinação, a cada dois meses (exceto na primeira e terceira avaliação, que foi com intervalo de 30 dias), do diâmetro basal (Db), medido na altura da superfície do solo com o emprego de um paquímetro digital, e da altura (H), utilizando uma fita métrica milimetrada.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, assumindo o delineamento experimental como sendo em blocos casualizados com parcelas repetidas no tempo. As diferenças entre as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade de erro. O Programa estatístico utilizado foi o Sisvar.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crescimento em altura dos genótipos clonados e mudas propagadas sexualmente de erva-mate *Cambona 4* diferiram significativamente no decorrer dos 600 dias de avaliação após o plantio (Tabela 1). Foram verificadas diferenças a partir da avaliação realizada aos 120 dias (março), destacando-se oito dos treze genótipos clonados (G3, G4, G7, G8, G9, G10, G11 e G13), com crescimento superior também em relação às plantas propagadas por sementes. O reduzido crescimento nos primeiros quatro meses deveu-se ao plantio realizado tardiamente, em 20 de novembro, quando as temperaturas já se encontravam elevadas, somado ao inerente estresse provocado pela transferência das mudas de um ambiente de estufa, manejadas com sombreamento de 50% e irrigações regulares, para uma condição de campo. Os prejuízos ao crescimento inicial foram agravados pelas condições de chuva bastante adversas nos meses que se seguiram, uma vez que, em dezembro/13 e fevereiro/14, o volume de precipitação se manteve abaixo da média histórica (Apêndices 4 e 5), voltando a normalizar em março, mês que completou os 120 dias.

A análise do crescimento de cada genótipo no decorrer do tempo revelou que os primeiros crescimentos de fato significativos

foram registrados apenas aos 120 dias, dos genótipos G4, G10 e G13, mantendo-se esses e os demais sem crescimentos significativos até os 240 dias, período correspondente aos meses de abril a julho, de menor temperatura média (Apêndice 2).

Aos trezentos dias (setembro), no início da primavera, com as temperaturas em elevação a partir de agosto (Apêndice 2) e precipitação acima do normal em setembro (Apêndice 5), todos os genótipos (exceto G4) e mudas de semente apresentaram alturas significativamente maiores em relação à medição anterior, demonstrando a retomada do crescimento. Assim, no início do novo ciclo vegetativo, apresentava-se com altura superior o genótipo G10 (57,8 cm), seguido de G7, G11 e G13, com 46,0 a 47,8 cm. As mudas de semente apresentaram altura semelhante aos demais genótipos com menor crescimento, com 37,0 cm.

Tabela 1 – Altura após o plantio no campo de genótipos de erva-mate *Cambona 4* propagados por estaquia (G1 a G13) e de mudas obtidas a partir de sementes, de novembro de 2013 a julho de 2015. Passo Fundo, RS

Genótipos	Altura das plantas (cm)												
	Dias após o plantio												
	Plantio	30	90	120	180	240	300	360	420	480	540	600	
	Nov	Dez	Fev	Mar	Mai	Jul	Set	Nov	Jan	Mar	Mai	Jul	
G1	17,0 Ea	19,3 Ea	22,0 Ea	24,3 Eb	26,3 Eb	26,3 Eb	35,0 Dc	46,0 Cc	54,0 Cc	60,0 Bc	70,0 Ab	75,0 Ad	
G2	17,3 Ca	21,7 Ca	24,0 Ca	24,3 Cb	25,8 Cb	25,8 Cb	32,9 Dc	39,3 Dc	44,7 Cd	50,7 Cc	68,3 Ac	73,8 Ad	
G3	20,8 Da	24,4 Da	25,5 Da	27,7 Da	28,9 Db	28,9 Db	35,1 Cc	41,5 Cc	46,5 Bd	49,8 Cc	66,5 Ac	76,7 Ad	
G4	19,0 Da	22,3 Da	24,0 Da	29,0 Ca	32,3 Ca	32,3 Ca	35,8 Cc	41,0 Cc	44,3 Bd	48,0 Bc	58,0 Ac	60,8 Ae	
G5	14,0 Da	16,8 Da	20,5 Da	23,3 Db	24,3 Db	24,2 Db	33,0 Cc	41,5 Bc	49,0 Bd	53,5 Bc	63,8 Ac	69,5 Ad	
G6	16,0 Da	16,5 Da	17,8 Da	18,3 Db	20,0 Db	20,0 Db	26,3 Cc	34,5 Cc	44,3 Bd	55,8 Ac	62,0 Ac	65,8 Ad	
G7	20,5 Ea	23,8 Ea	27,5 Ea	32,7 Da	34,8 Da	34,7 Da	47,8 Cb	60,0 Cb	67,3 Cb	78,8 Ba	81,3 Bb	93,0 Ab	
G8	20,0 Fa	23,8 Ea	27,9 Ea	30,3 Ea	32,3 Ea	32,2 Ea	40,3 Dc	48,5 Cc	55,0 Cc	67,8 Bb	76,5 Bc	99,0 Ab	
G9	20,8 Fa	24,5 Fa	25,0 Fa	25,3 Fa	28,5 Fa	28,5 Fa	40,5 Ec	53,3 Db	63,0 Cb	68,3 Cb	75,8 Bb	86,8 Ac	
G10	20,3 Fa	21,5 Fa	25,8 Fa	35,3 Ea	36,8 Ea	36,8 Ea	57,8 Da	72,3 Ca	79,0 Ca	86,0 Ba	101,0 Aa	110,0 Aa	
G11	22,5 Da	23,3 Da	25,8 Da	28,0 Da	29,0 Da	29,0 Da	46,0 Cb	60,8 Bb	68,3 Bb	78,0 Aa	80,2 Ab	86,0 Ac	
G12	15,0 Ca	16,8 Ca	18,0 Ca	21,3 Cb	23,8 Ca	23,8 Cb	33,7 Bc	44,5 Ad	46,7 Ad	48,3 Ac	51,2 Ac	56,8 Ae	
G13	17,0 Ga	19,0 Ga	22,8 Ga	29,5 Fa	31,3 Fa	31,3 Fa	46,8 Eb	57,0 Db	63,8 Db	72,5 Cb	89,5 Ba	96,5 Ab	
Mudas semente	15,8 Ea	17,3 Ea	19,0 Ea	21,0 Eb	23,8 Eb	23,8 Eb	37,0 Dc	50,0 Cc	58,0 Cc	70,3 Bb	79,0 Ab	83,2 Ac	
CV 1 (%)	63,88												
CV 2 (%)	16,65												

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha, e minúscula na coluna, não diferem pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade de erro. CV 1 - parcela principal; CV 2 - subparcela

A partir de setembro/14 (300 dias) até maio/2015 (540 dias) houve crescimento em altura de todos os genótipos (exceto G12) e mudas de semente, proporcionado pela ocorrência de precipitações acima do normal, exceto nos meses de fevereiro e, principalmente, em março (Apêndices 5 e 6), e temperaturas acima do normal nos meses de setembro a dezembro, e no outono/inverno, nos meses de abril a julho (Apêndices 2 e 3). Apenas em janeiro e fevereiro as temperaturas foram semelhantes às normais, o que pode-se considerar favorável ao crescimento, uma vez que estes são os meses mais quentes do ano. Em maio, aos 540 dias, favorecido o crescimento pelas temperaturas excepcionalmente mais elevadas que as normais de outono, nove genótipos alcançaram o máximo crescimento, incluindo as mudas de semente, não diferindo das avaliações 60 dias após, em julho, aos seissentos dias, cujo reduzido ou nulo crescimento pode ser justificado pelas mais baixas temperaturas dos meses de junho e julho.

Após seissentos dias de crescimento, em julho de 2015, destacou-se por apresentar plantas de maior altura o genótipo G10, com 110 cm, seguido de G7, G8 e G13, entre 93,0 e 99,0 cm. As mudas propagadas por semente atingiram 83,2 cm, inferior aos quatro genótipos citados, mas superior em relação a outros seis genótipos.

O crescimento em diâmetro, determinado na base do caule, apresentou comportamento similar ao observado para a altura das plantas, em resposta às diferenças entre genótipos e condições ambientais já relatadas. Diferenças significativas entre os genótipos foram verificadas apenas na avaliação realizada 120 dias após o plantio (Tabela 2), destacando-se os genótipos G2, G7, G10, G11, G12, G13 e as plantas propagadas sexuadamente.

Tabela 2 – Diâmetro basal do caule após o plantio no campo de genótipos de erva-mate *Cambona 4* propagados por estaquia (G1 a G13) e de mudas obtidas a partir de sementes, de novembro de 2013 a julho de 2015. Passo Fundo, RS

Genótipos	Diâmetro basal das plantas (mm)											
	Dias após o plantio											
	30	90	120	180	240	300	360	420	480	540	600	
	Nov	Dez	Fev	Mar	Mai	Jul	Set	Nov	Jan	Mar	Mai	Jul
G1	3,3 Da	3,4 Da	4,1 Da	4,2 Db	4,2 Db	4,3 Db	6,1 Dd	12,5 Cc	19,1 Bc	22,0 Bb	23,4 Ab	25,9 Ab
G2	2,9 Ea	2,9 Ea	3,4 Ea	3,8 Db	3,9 Db	3,9 Db	7,0 Cd	13,1 Bc	17,4 Ac	18,2 Ac	20,1 Ac	20,2 Ac
G3	3,4 Ea	3,6 Ea	3,9 Ea	4,4 Eb	4,5 Eb	4,5 Eb	8,5 Dd	13,6 Cc	20,4 Bb	23,3 Ab	25,3 Ab	25,9 Ab
G4	3,2 Ea	3,9 Ea	4,2 Ea	4,3 Eb	4,5 Eb	4,5 Eb	7,8 Dd	14,4 Cc	18,1 Bc	20,9 Ac	23,3 Ab	23,3 Ac
G5	2,3 Da	2,7 Da	3,9 Da	3,3 Db	3,4 Db	3,5 Db	9,7 Cc	15,6 Bc	18,6 Bc	19,9 Ac	21,7 Ac	23,1 Ac
G6	2,5 Ea	2,7 Ea	2,8 Ea	3,5 Eb	3,6 Eb	3,6 Eb	7,5 Dd	14,4 Cc	19,3 Bc	22,9 Ab	24,6 Ab	26,4 Ab
G7	3,3 Fa	3,5 Fa	5,2 Fa	7,4 Ea	8,7 Ea	8,7 Ea	13,6 Db	19,6 Cb	21,8 Bb	23,0 Bb	24,0 Bb	28,6 Aa
G8	3,4 Da	4,2 Da	5,1 Da	6,4 Db	6,6 Db	6,6 Db	11,2 Cc	17,8 Bb	18,6 Bc	23,1 Ab	24,4 Ab	26,5 Ab
G9	3,1 Da	3,7 Da	4,4 Da	5,4 Db	6,1 Db	6,1 Db	15,4 Cb	22,2 Ba	24,4 Ba	24,8 Bb	25,9 Bb	30,0 Aa
G10	3,4 Ea	3,5 Ea	4,0 Ea	7,7 Da	7,8 Da	7,8 Da	16,8 Ca	22,1 Ba	23,1 Ba	29,3 Aa	31,7 Aa	32,0 Aa
G11	3,0 Fa	3,3 Fa	5,6 Fa	9,9 Ea	11,1 Ea	11,1 Ea	14,6 Db	16,6 Cc	20,2 Bb	23,7 Ab	24,7 Ab	26,0 Ab
G12	2,3 Da	2,6 Da	4,3 Da	8,3 Ca	9,8 Ca	9,8 Ca	14,2 Bb	14,9 Bc	16,5 Bc	17,7 Ac	18,3 Ac	19,3 Ad
G13	3,9 Ea	4,6 Ea	6,1 Ea	11,3 Da	12,0 Da	12,0 Da	18,4 Ca	9,8 Cb	21,0 Cb	25,6 Bb	28,8 Ba	30,0 Aa
Mudas semente	2,7 Da	3,2 Da	5,2 Da	9,6 Ca	10,6 Ca	10,6 Ca	17,7 Ba	18,4 Bb	21,0 Ab	22,4 Ab	23,1 Ab	24,5 Ac
CV 1(%)	62,64											
CV 2(%)	16,80											

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha, e de mesma letra minúscula na coluna, não diferem pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade de erro. CV 1 - parcela principal; CV 2 – subparcela.

As medições realizadas após os 120 dias, até os 240 dias, correspondendo aos meses de abril a julho, de menor temperatura média (Apêndice 2), não revelaram significativos crescimentos. Aos 300 dias (setembro), no início da primavera, com as temperaturas em elevação (Apêndice 2) e precipitação acima do normal (Apêndice 5), todos os genótipos (exceto G1) e as mudas de semente, apresentaram maiores diâmetros em relação à medição anterior, demonstrando a retomada do crescimento. Nesse momento, mantiveram-se com diâmetro superior os genótipos G10, G13 e as mudas de semente.

Precipitações acima do normal, entre os meses de outubro e janeiro de 2014, e temperaturas pouco acima do normal, propiciaram satisfatórias condições de crescimento do diâmetro para todos os genótipos, exceto G12, e mudas de semente a partir de 300 até 420 dias. Em março, aos 480 dias, mesmo com um regime de chuvas abaixo do normal nos meses de fevereiro e março, nove dos treze genótipos apresentaram aumentos significativos em relação a dois meses anteriores, sendo que nove genótipos alcançaram o máximo crescimento, incluindo as mudas de semente, não diferindo das avaliações feitas em julho, aos 600 dias.

Ao final das avaliações, os genótipos G7, G9, G10 e G13 apresentaram diâmetros superiores, entre 28,6 e 32,0 mm, seguidos de G1, G3, G6, G8 e G11, entre 25,9 e 26,5 mm. As mudas propagadas via sexuada alcançaram média de 24,5 mm. A Figura 2 apresenta um exemplo do porte alcançado pelos melhores genótipos.



Figura 2 - Genótipos de erva-mate *Cambona 4* multiplicadas por estaquia com satisfatório desenvolvimento no campo - julho de 2015. Passo Fundo, RS, 2015.

Anatomicamente, ocorre na região cortical do caule em crescimento secundário (diâmetro), a presença de parênquima, colênquima e esclerênquima. O parênquima, tanto no córtex como na medula, apresenta a função de armazenamento, além de poder apresentar cloroplastos (caule jovem) e realizar fotossíntese. O colênquima e o esclerênquima possuem a função de sustentação. Pela atividade do câmbio interfascicular e do felogênio, dá-se o crescimento secundário do caule. Entre os feixes vasculares surge o câmbio interfascicular, que se liga com o câmbio fascicular formando um anel contínuo de tecido cambial. Em seguida, inicia-se a formação de xilema para dentro e floema para fora, evidenciando-se um sistema vascular concêntrico. O felogênio surge da diferenciação dos tecidos subepidérmicos (colênquima e parênquima) e vai originar o súber,

para a periferia, e o feloderma para dentro (APPEZZATO-DA-GLÓRIA & GUERREIRO, 2006; CULTER et al., 2011).

Alterações da temperatura ambiental influenciam sensivelmente o crescimento das plantas. Mudanças em poucos graus ocorridas no ambiente natural geralmente levam a alterações significativas nas taxas de crescimento, sendo a temperatura mínima definida como aquela abaixo da qual não há crescimento; temperatura ótima, aquela onde o crescimento atinge a máxima taxa, e temperatura máxima o valor de temperatura acima do qual não há crescimento, e a planta pode morrer. Além disso, diferentes tecidos de uma mesma planta também podem apresentar diferentes temperaturas cardinais (SALISBURY & ROSS, 1991).

A temperatura é um fator determinante da taxa de processos metabólicos e, portanto, possui impacto no crescimento das plantas, especialmente no balanço de carbono, por meio de sua influência sobre a fotossíntese e a respiração celular, além de afetar o balanço hídrico, perturbar sistemas enzimáticos, induzir o estresse hídrico e a perda de turgescência. As temperaturas extremas podem causar danos para as folhas (LANDSBERG & SANDS, 2011). Altas temperaturas podem diminuir a assimilação de carbono, devido ao aumento da transpiração e fechamento de estômatos. Já as baixas temperaturas, tais como em dias com ocorrência de geadas, há redução da atividade fotossintética por certo período de tempo, em consequência do congelamento das células (LARCHER, 2000).

O desenvolvimento das plantas é controlado pelo nível do déficit hídrico da planta e, indiretamente pelo nível do déficit hídrico do solo (KRAMER, 1969). O déficit hídrico é causado pela excessiva

perda de água através da transpiração, pela absorção insuficiente ou pela combinação de ambos os processos. O déficit hídrico ocorre durante o dia, quando a taxa de transpiração é maior do que a taxa de absorção. À noite, se houver disponibilidade de água no solo, o equilíbrio hídrico da planta é restabelecido, caso contrário aumenta o déficit hídrico com o passar dos dias (KOZLOWSKI et al., 1991).

A respeito do efeito das condições ambientais sobre o crescimento das plantas, Majada et al. (2000) salientam que, embora as características anatômicas sejam determinadas geneticamente, as condições ambientais têm forte influência sobre a estrutura destas. A redução da temperatura leva a uma diminuição da velocidade das reações químicas vitais das plantas, além de tornar as biomembranas mais rígidas, sendo necessária maior quantidade de energia para ativar processos bioquímicos (LARCHER, 2000).

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram a existência de variabilidade entre genótipos de *Cambona 4* no crescimento de mudas clonadas por estaquia. Dependendo do genótipo, foi comprovado que o crescimento pode ser similar ou superior às mudas convencionais, obtidas a partir de sementes, respondendo às dúvidas de vários produtores de mudas e de ervamate, que se mostram, por vezes, receosos em adotar a tecnologia da estaquia. Necessário se faz, obviamente, realizar um trabalho de seleção de matrizes superiores, com alta produtividade e qualidade da matéria prima, com satisfatório potencial de enraizamento, e elevado desempenho do crescimento no campo.

4 CONCLUSÕES

a) O desenvolvimento de mudas plantadas no campo, multiplicadas por estaquia, varia entre genótipos de erva-mate *Cambona 4*.

b) O desenvolvimento dos melhores genótipos é similar ou superior às mudas propagadas a partir de sementes, demonstrando a plena viabilidade técnica da clonagem da erva-mate *Cambona 4* por estaquia na produção comercial de mudas.

c) Considerando a variabilidade existente, o sucesso da tecnologia da estaquia depende de prévia seleção de matrizes superiores, com alta produtividade e qualidade da matéria prima, satisfatório potencial de enraizamento e elevado crescimento no campo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A estaquia se apresenta como uma técnica viável de produção de mudas de erva-mate. Para tanto, se faz necessário selecionar matrizes que apresentem características superiores de produtividade e qualidade da matéria prima, combinado com satisfatória capacidade de enraizamento. No presente trabalho, os genótipos G4 e G28 demonstraram bons potenciais de enraizamento, restando avançar na análise da produtividade e da composição química das folhas, sob o ponto de vista industrial, para indicação como matrizes.

Outros estudos merecem ser desenvolvidos com doses mais reduzidas de AIB, uma vez que doses elevadas, utilizadas em vários trabalhos, demonstraram nesta pesquisa que podem, de fato, propiciar maior nível de estresse ou fitotoxidez às estacas. Também o acompanhamento da dinâmica da peroxidase, dos açúcares e das proteínas, durante todo o processo de estaquia, é interessante para melhor elucidar as alterações bioquímicas que podem ser decisivas no sucesso da técnica.

Por fim, é necessário aprofundar a pesquisa sobre o desenvolvimento de mudas propagadas por estaquia no campo, ampliando o banco de germoplasma com outros genótipos de erva-mate, além da *Cambona 4*. As evidências comprovadas no presente estudo, de que o crescimento de mudas por estacas no campo pode ser similar ou superior às mudas obtidas a partir de sementes, consolidam o posicionamento de que a estaquia pode ser uma excelente alternativa para a implantação de ervais mais uniformes e produtivos.

REFERÊNCIAS

ABITANTE, A. L. *Modelagem dinâmica e análise de um sistema de controle de umidade de folhas de erva-mate em secadores contínuos de esteira*. 2007. 78f. Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Programa de Pós-graduação em Engenharia, Universidade Federal do Paraná, PR, 2007.

ALBACETE, A. A.; MARTÍNEZ-ANDÚJAR, C.; PÉREZ-ALFOCEA, F. *Hormonal and metabolic regulation of source-sink relations under salinity and drought: From plant survival to crop yield stability*. *Biotechnology Advances*, v. 32, n. 1, p.12-30,2013.

ALLAIN, C. C.; POON, L. C.; CHAN, C. S. G.; RICHMOND, W.; FU, P. C. Enzimatic determination of total serum cholesterol. *Clinical chemistry*, v. 20, n. 4, p. 470-475, 1974.

AMAZÔNIA. *Erva-mate*. 2008. Disponível em: <[http:// www.Amazoniajh.hpg.ig.com.br/Erva-Mate.htm](http://www.Amazoniajh.hpg.ig.com.br/Erva-Mate.htm)>. Acesso em: 10 jun. 2011.

ANDRADE, F. M. Exploração, manejo e potencial socioeconômico da erva-mate. In: SIMÕES, L. L.; LINO, C. F. (Org). *Sustentável Mata Atlântica: a exploração de seus recursos florestais*. São Paulo: SENAC, 2002.34 p.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; GUERREIRO, S. M. C. (Eds.) *Anatomia vegetal*. Viçosa: Ed. UFV, 2006. 438 p.

ASSEMBLÉIA LEGISLATIVA DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL. *Rio Grande do Sul*. Disponível em: <<http://www.al.rs.gov.br>>. Acesso em: 14 abr. 2011.

ASSIS, T. F.; FETT-NETO, A. G.; ALFENAS, A. C. Current techniques and prospects for the clonal propagation of hardwood with emphasis on Eucalyptus. In: WALTER. C.; CARSON, M. (Org.). *Plantation forest biotechnology for the 21th century*. New Delhi: Research Sign Post, 2004. p. 303-333.

BAGGIO, A. *Arborização da erva-mate; alternativa de agregação de valor com a qualidade ambiental*. Disponível em: <<http://www.grupocultivar.com.br/>>. Acesso em: 18 jan. 2013.

BARBOSA, A. G.; SILVA, R. L. X. Doenças do abacaxi. In: OLIVEIRA, S. M. A.; TERAPO, D.; DANTAS, S. A. F.; TAVARES, S. C. C. H. (Eds.). *Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p. 501-504.

BARREIROS, A. L. B. S. DAVI, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, São Paulo, v 29, n.1, p.113-123, 2006.

BECKER, I. I. B. *O índio Kaingang no Rio Grande do Sul*. São Leopoldo: Instituto Anchieta: Unisinos, 1995. 125 p.

BERKAI, D.; BRAGA, C. *500 Anos da história da erva-mate*. 1 ed. Porto Alegre: Atlas, 2000. 97 p.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K. V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, London, v. 91, n. 2, p. 179-194, 2003.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. *Analytical Biochemistry*, Dulth, v. 72, p. 248- 254, 1976.

BROETTO, F.; CASA, A. M.; MALAVOLTA, E.; LOPES, C.R. Isoenzymatic polymorphism and activity of peroxidases of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under saline stress. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 54, n. 3, p.128-132, 1997.

BROMATOS, S. L. *Fitoterapia: vademacum de prescripción*. Plantas Medicinales. 3.ed. Barcelona: Masson, 2000. 315 p.

BRONDANI, G. E.; WENDLING, I.; ARAÚJO, A. M.; SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; ROVEDÁ, L. F. Composições de substratos e ambiente de enraizamento na estaquia de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. *Floresta*, Curitiba, v. 39, n. 1, p. 41-49, 2009.

CAMPOS, A. D.; SILVEIRA, E. M. da L. *Metodologia para determinação da peroxidase e da polifenol oxidase em plantas. Pelotas*: Embrapa Clima Temperado, 2003. (Comunicado Técnico, 87).

CARVALHO, P. E. R. *Espécies arbóreas brasileiras*. 1 ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. 1039 p.

CARVALHO, P. E. R. *Ilex paraguariensis* Saint-Hilaire. In: CARVALHO, P. E. R. *Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira*. Brasília: Embrapa/SPI, 1994. p. 280-287.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, E. B. *Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio*. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.

CHRISTIN, O. *Fertilizacion de yerbales*. Editora: INTA, Santo Pipo. (Circular de Divulgación), 1987. 10p.

COELHO, G. C. Variabilidade morfológica e química da erva-mate. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE E REUNIÃO TÉCNICA DA ERVA-MATE, 3., 2000, Porto Alegre. *Anais...* Porto Alegre: Edigraf, 2000. p. 125.

CORRÊA, G. *Controle genético do enraizamento de estacas de erva-mate (Ilex paraguariensis Saint Hilaire)*. 55 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1995.

CORRÊA, G.; VILICAHUAMAN, L. J. M.; MELO, de. I. B.; BAGGIO, A. J.; FELIZARI, S. R., RUFFATO, A. *Sistema Agroflorestal de erva-mate com a progênie bi-parental Cambona 4*. Colombo: Embrapa Florestas, 2009. 20 p. (Circular Técnica, 1).

COUÉE, I.; SULMON C.; GOUESBET, G.; AMRANI, A. E. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, v. 57, n. 3, p. 449–459, 2006

COUTINHO, E. F.; FRANCHINI, E. R.; MACHADO, N. P.; CASAGRANDE, J. G. *Propagação de mirtilo do tipo Rabbiteye por estaquia e alporquia*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. 34 p. (Embrapa Clima Temperado. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 50).

CUTLER, D. F.; BOTHA, T.; STEVENSON, D. W. *Anatomia Vegetal: Uma abordagem aplicada*. Porto Alegre: Artmed, 2011. 304p.

DA CROCE, D. M.; FLOSS, P. A. *Cultura da erva-mate no Estado de Santa Catarina*. Florianópolis: Epagri, 1999. 81 p. (Boletim Técnico, 100).

DANIEL, O. *Erva-mate: sistema de produção e processamento industrial*. 1. ed. Dourados-MS: UFGD, 2009. 287 p.

DIAZ-SALA, C.; HUTCHISON, K. W.; GOLDFARB, B.; GREENWOOD, M. S. Maturation-related loss in rooting competence by loblolly pine stem cuttings: The role of auxin transport, metabolism and tissue sensitivity. *Physiologia Plantarum*, n. 97, p. 481-490, 1996.

DONADUZZI, C. M.; COELHO, S. R. M.; CARDOSO JÚNIOR, E. L.; GALLO, A. G.; HUPPES, G. K.; KUHN, I. M. V.; SCHICHEL, C. Teores de cafeína, polifenóis totais e taninos em amostras de erva-mate comercializadas na região de Toledo, Paraná. In: CONGRESSO SUL AMERICANO DA ERVA-MATE, 2.; REUNIÃO TÉCNICA DA ERVA-MATE, 3., 2000, Encantado. *Anais...* Porto Alegre: Ufrgs/Fepagro, 2000. p. 158-161.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HALMITON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, v.28, p.350-356, 1956.

EDWIN, G.; REITZ, P. R. *Flora ilustrada catarinense*. 1 ed. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1967. 47 p.

EFING, L. M. A. C. *Compostos bioativos do material resinoso, subproduto do processamento da erva-mate (Ilex paraguariensis A. St.-Hil)*. 2008. 123 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, 2008.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. *Cultivo da Erva-mate*. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Erva_mate/CultivodaErvaMate_2ed/Distrib_geograf.htm>. Acesso em: 31 maio 2013.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Trigo. Laboratório de Agrometeorologia. *Normais climatológicas (1961-1990)*: Passo Fundo-RS. Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/pesquisa/agromet/app/principal/normais.php>. Acesso em: 05 jan. 2013.

ESMELINDRO, M. C.; TONIAZZO, G.; WACZUK, A. Caracterização físico-química da erva mate: influência das etapas do processamento industrial. *Ciência Tecnologia de Alimentos*, v. 22, n. 2, p. 199-204, 2002.

ESPÍNDOLA JUNIOR, A. Morfologia e anatomia foliar de duas espécies medicinais (*Mikania glomerata Spreng.* - Asteraceae e *Bauhinia forficata* Link. - Leguminosae) associadas à erva-mate, sob diferentes condições de luminosidade. 2006. 82f. Dissertação (Mestrado em Botânica), Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federa do Paraná. 2006.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E. *Propagação de plantas frutíferas*. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2005. 220 p.

FERRAZ, M. V. *Avaliação da utilização de películas amiláceas na conservação pós-colheita de rosa (Rosa hybrida var. grand Galla)*.

2000. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – FCA, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, Botucatu, 2000.

FERREIRA, A. G.; KASPARY, R.; FERREIRA, H. B.; ROSA, L. M. Proporção de sexo e polinização em *Ilex paraguariensis* St. Hil. *Brasil Florestal*, n. 53, p. 29-33, 1983.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; GALMÉS, J.; MEDRANO, H.; RIBASCARÓ, M.; Keeping a positive carbono balance under adverse conditions responses of photosyntes and respiration to water stress. *Phisiology Plantarum*, v. 127, p. 343-352, 2006.

GARCÍA-LUIZ, A.; OLIVEIRA, M. E. M.; BORDON, Y.; SIQUEIRA, D. L.; TOMINANGA, S.; GUARDIOLA, J. L. Dry matter acumulation in citrus fruit is not limited by transport capacity of pedicel. *Annals of Botany*, v. 90, n. 6, p. 755-764, 2002.

GIBSON, S. I. Sugar and phytohormone response pathways: navigating a signaling network. *Journal of Experimental Botany*, v. 55, p.253-264, 2003.

GROF, C. P. L.; CAMPBELL, J. A. Sugarcane sucrose metabolism: scope for molecular manipulation. *Australian Journal of Plant Physiology*, v. 28, p. 1-12, 2001.

GROSSI, F.; DUTRA, L. F.; WENDELING, I. Produção e sobrevivência de miniestacas e minicepas de erva-mate cultivadas em sistema semi-hidropônico. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 42, n. 2, p. 289-292, 2007.

GUTMANN, M.; ADERKAS, P. Von; LABEL, P.; LELU, M. Effects of abscisic acid on somatic embryomaturation of hybrid larch. *Journal Experimental Botany*, v. 47, p. 1905-1917, 1996.

HAISSIG, B. E. Metabolic processes in adventitious rooting of cuttings. In: JACKSON, M. B. (Ed.). *New root formation in plants and cuttings*. The Netherlands: Dordrecht, 1986. p. 141-189.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JÚNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. *Plant propagation: principles and practices*. 7. ed. New Jersey: Prentice- Hall, 2002. 880 p.

HASEGAWA, P. M.; BRESSAN, R. A.; ZHU, J. K.; BOHNERT, H. J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v. 51, p. 463-499, 2000.

HAUSMAN, J. F. Changes in peroxidase activity, auxin level and level and ethylene production during root formation by poplar shoots raised in vitro. *Plant Growth Regulation*, v.13, p. 263- 268, 1993.

HETTWER, V. F. J. M. *Variabilidade fenotípica e potencial de enraizamento por estaquia de genótipos de erva-mate Cambona 4*. 2013. 99 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2013.

HORBACH, M. A. *Propagação in vitro e ex vitro de erva mate (Ilex paraguariensis Saint Hilaire – Aquifoliaceae)*. 2008. 52 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

IBGE. *Produção da extração vegetal e da silvicultura*. 2012. Disponível em: <[http:// www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br)>. Acesso em: 10 mar. 2013

IRITANI, C.; SOARES, R. V. Ação de reguladores de crescimento em estacas de *Ilex paraguariensis* St. Hilaire. *Revista Floresta*, v. 12, n. 2, p. 59-67, 1981.

KASPARY, R.; VALDUGA, E. *Benefícios da erva-mate*. 2008. Disponível em: <<http://www.erva-mate.com/beneficios.html>>. Acesso em: 27 jan. 2014.

KERBAUY, G. B. *Fisiologia Vegetal*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2008. 210 p.

KOCH, K. E. Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annual Review Plant Physiology*, v. 47, p 509-540, 1996.

KOEHLER, H. S.; BITENCOURT, J.; ZUFFELLATO-RIBAS; K. C.; WENDLING, I. Enraizamento de estacas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill.) provenientes de brotações rejuvenescidas. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 11, n. 3, p. 277-281, 2009.

KOZLOWSKI, T. T.; KRAMER, P. J.; PALLARDY, S. G. *The physiological ecology of wood plants*. San Diego: Academic Press, 1991. 657 p.

KRAMER, P. J. *Plant and soil water relationships: a modern synthesis*. New York: MacGraw-Hill, 1969. 482 p.

KRAPP, A.; HOFMANN, B.; SCHÄFER, C.; STITT, M. Regulation of the expression of *rbcS* and other photosynthetic genes by carbohydrates: a mechanism for the “sink regulation” of photosynthesis? *Plant Journal*, v. 3, p.817-828, 1993.

KRAUS, J. E.; KERBAUY, G. B.; MONTEIRO, W. R. Aspectos histoquímicos da formação de protocormóides em ápices radiculares de *Catasetum pileatum* cultivados in vitro. In: BARROS, F.; KERBAUY, G. B. (Eds.). *Orquidologia sul-americana: uma compilação científica*. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente, Instituto de Botânica, 2004. p. 85-89.

KERBAUY, G. B. (Eds.). *Orquidologia Sul Americana: uma compilação científica*. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, 2008. p. 89-192.

KRICUM, D. P. Propagación vegetativa de plantas adultas de yerba mate. In: WINGE, H; FERREIRA, G. A.; MARIATH, J. E. A.; TARASCONI, L. C. (Org.). *Erva-mate: biologia e cultura do Cone Sul*. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS, 1995. p. 23-26.

KUINCHTNER, A.; BURIOL, G. A. Clima do Estado do Rio Grande do Sul segundo a classificação climática de Köppen e Thornthwaite. *Disciplinarum Scientia*, v. 2, p. 171-182, 2001.

LANDSBERG J.; SANDS P. *Physiological ecology of forest production: principles, processes, and models*. Amsterdam: Elsevier. Academic Press, 1. ed., v. 4, 2011.

LARCHER, W. *Ecofisiologia vegetal*. São Carlos: Rima Artes e Textos, 2000. 531 p.

LORENZI, H. E.; MATOS, F. J. de. A. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512 p

LORENZI, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. 1. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000. 383 p.

LUZ, M. *Carijos e barbaquás no Rio Grande do Sul: resistência camponesa e conservação ambiental no âmbito da fabricação artesanal de erva-mate*. 2011. 223 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Rural) – Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Rural, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

MACIEL, H. P. F, GOUVEA, C. M. C. P, PASTORE, G. M. Obtenção de nova fonte de peroxidase da folha de *Capaifera langsdorfii* Desf com alta atividade. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, p.735-739, 2006.

MAJADA, J. P.; TADEO, F.; FAL, M. A.; SÁNCHEZ-TAMÉS, R. 2000. Impact of culture vessel ventilation on the anatomy and morphology of micropropagated carnation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 63, p. 207-214, 2000.

MALAVASI, U. C. Macropropagação vegetativa de coníferas: perspectivas biológicas e operacionais. *Revista Floresta e Ambiente*, v.1, n.1, p.131-135, 1994.

MATTOS, I. L. de; SHIRAISHI, K. A.; BRAZ, A. D.; FERNANDES, J. R. *Peróxido de hidrogênio: importância e determinação*. Química Nova, v. 26, n. 3, p. 373-380, 2003.

MAZUCHOWSKI, J. Z. *Patentes industriais e as prioridades para os investimentos tecnológicos na Cadeia Produtiva da Erva-Mate*. n. 2. Curitiba: EMATER. 2003, 178 p. (Série PADCT da Erva-Mate).

MEDRADO, M. J. S.; STURION, J. A. Cambona 4: desenvolvimento de uma progênie biclonal de erva-mate em Machadinho, RS. In: EMBRAPA. *Cultivo da erva-mate*. Colombo: Embrapa Florestas, 2005. p. 1-30.

MOORE, P. H. Integration of sucrose accumulation processes across hierarchical scales: towards developing an understanding of the gene-to-crop continuum. *Fields Crops Research*, v.92, p. 119-135, 2005.

MORALES, C. F. G. *Influência do ácido indolbutírico e da presença de folhas no enraizamento de estacas de laranjeiras 'Valência' e tangerineiras 'Montenegrina'*. 1990. 71p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1990.

NEUMANN, R. I. *Anuário brasileiro da Erva-Mate*. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 2000. 79 p.

OLIVEIRA, de. V. S.; WAQUIL, P. D. Dinâmica de produção e comercialização da erva-mate no Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, v. 45, n. 4, p. 750-756, 2014.

OLIVEIRA, M. A. *Comportamento pós-colheita de pêssegos (Prunus persica L. Batsch) revestindo com filmes a base de amido como alternativa à cera comercial*. 2000. 134 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – FCA, Universidade Estadual Paulista. Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP, 2000.

OLIVEIRA NETO, C. F.; LOBATO, A. K. S.; COSTA, R. C. L. *Teor de carboidratos solúveis totais em folhas de duas cultivares de feijão-caupi sob estresse hídrico*. In: CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO-CAUPI, Aracaju. *Anais...* Teresina: (cd-room), 2006. p. 1-8.

PASQUAL, M.; CHAFLUM, N. N. J.; RAMOS, J. D.; VALE, M. R. do; SILVA, C. R. de R. E. *Fruticultura comercial: propagação de plantas frutíferas*. 1.ed. Lavras: UFLA/ FAEPE, 2001. 137 p.

PASSARDI, F.; PENEL, C.; DUNAND, C. Performing the paradoxical: how plant peroxidases modify the cell wall. *Trends Plant Science*, v. 65, p. 1879-1893, 2004

PENEK, A. D. *Dosagem da peroxidase nas folhas de mate*. Cidade: Instituto de Química Agrícola, 1955. p. 7-12. (Boletim do Instituto de Química Agrícola, 39).

PERES, L. E. P.; KERBAUY, G.B. Citocininas. In: KERBAUY, G. B. (Ed.). *Fisiologia Vegetal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 250-278.

PIRES, E. J. P.; BIASI, L. A. Propagação da videira. In: POMMER, C.V. *Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado*. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. 350 p.

PISA, I. M. T.; LIMA, G. P. P.; BRASIL, O. G. Atividade de peroxidase e níveis de proteínas em plantas de abacaxizeiro micropropagadas em meio salino. *Revista Brasileira de Agrociência*, v. 9, n. 4, p. 361-366, 2003.

PONDÉ, J. L. S. Concorrência e mudança institucional em um enfoque evolucionista. In: ENCONTRO NACIONAL DE ECONOMIA, n.24, 1996, Brasília. *Anais...* Brasília: ANEPC, 1996. 24 p.

PRADO, D. Z. do. Enraizamento de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* pela ação de peróxido de hidrogênio, quercetina e ácido indolbutírico. 2014. 106 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências de Botucatu, 2014.

QUADROS, K. M., *Propagação vegetativa de erva-mate (Ilex paraguariensis Saint Hilaire – Aquifoliaceae)*. Santa Maria, 2009. 58 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Departamento de Fitotecnia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, 2009.

QUIRINO, B. F.; NOH, Y. S.; HIMELBLAU, E.; AND, A. R.M. Molecular aspects of leaf senescence. *Trends Plant Sci.* Limerick, v. 5. p. 278-282, 2000.

RACHWAL, M. F. G; CURCIO, G. R; DEDECECK, R. A; NIETSCHKE, K.; RADOMSKI, M. I. Influência da luminosidade sobre os teores de macronutrientes e tanino em folhas de Erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) In: CONGRESSO SULAMERICANO DA ERVA-MATE, 2.; REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVAMATE, 2., 2000, Encantado. *Resumos...* Encantado, 2000. p.223-225.

RAMOS, J. D.; MATOS, L. E. S.; GONTIJO, T. C. A.; PIO, R.; JUNQUEIRA, K. P.; SANTOS, F. C. Enraizamento de estacas herbáceas de 'Mirabolano' (*Prunus cerasifera* Ehrn) em diferentes substratos e concentrações de ácido indolbutírico. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 25, p. 189-191, 2003.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. *Biologia Vegetal*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 650 p.

RIBAS, K. C. *Interações entre auxinas e co-fatores do enraizamento na promoção do sistema radicular, em estacas de Eucalyptus grandis W. Hiss ex Maiden*. 1997. 150 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997.

ROBINSON, D.S. Peroxidases and their significance in fruits and vegetables. In: FOX, P.F. (Ed.). *Food enzymology*. Editora: London and New York, New York, 1991. p. 399-426.

ROITSCH, T. Source-sink regulation by sugar and stress. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 21, p.198-206, 1999.

ROTTA, E.; OLIVEIRA, Y. M. M. Distribuição geográfica da erva-mate. In: EMBRAPA Florestas. *Cultivo da erva-mate*. Colombo: Embrapa Florestas, 2010. Disponível em: < http://www.sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/fonteshtml/cultivodaervamate_2ed/distrib-geoa>. Acesso em: 10 fev. 2013.

ROWE, D. B.; BLAZICH, F. A.; RAPER, C. D. Nitrogen nutrition of hedged stock plants of loblolly pine: 1- tissue nitrogen concentrations and carbohydrate status. *New Forests*, v. 24, n. 1, p. 39-51, 2002.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. *Plant Physiology*. 4. ed. California: Wadsworth Publishing Company, 1991. 682p.

SANTOS, K. A. *Estabilidade da erva-mate (Ilex paraguariensis St. Hill.) em embalagens plásticas*. 2004. 90 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de alimentos) – Universidade Federal do Paraná, 2004.

SANTOS, S. R. F. dos. *Multiplificação de genótipos de erva-mate pelo processo de estaquia*. 2011. 86 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2011.

SCHALLENBERGER, E. *Fatores que predispõem as plantas cítricas ao ataque de coleobrocas*. Botucatu. 1994. 110 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, 1994.

SCHUCHMANN, C. E. Z. *Ações para a formulação de um protocolo de rastreabilidade de Erva-Mate*. 2002. 94 f. Dissertação (Mestrado em Agronegócio) – Programa de Pós Graduação em Agronegócios, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Erechim, RS, 2002.

SILVEIRA, V.; FLOH, E.I.S., HANDRO, W.; GUERRA, M.P. Effect of plant growth regulators on the cellular growth and levels of intracellular protein, starch and polyamines in embryogenic suspension cultures of *Pinus taeda*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 76, p. 53-60, 2004.

SLEWINSKI, T. L.; BRAUN, D. M. Current perspectives on the regulation of whole-plant carbohydrate partitioning. *Plant Science*, v. 178, n. 4, p. 341-349, 2010.

SOARES, J. F.; ROSSI, D. C.; MARTINEZ, L. R.; FRASES, S.,; FONSECA, F. L.; CAMPOS, C. B.; RODRIGUES, M. L.; NOSANCHUK, J. D.; DAFRE, S. Strescture and mode of action of microplusin a copper II - chelating antimicrobial peptide from the

cattle tick *Rhipicephalus (Bophilus) micropulus*. *Journal of Biological Chemistry*, v. 284, p. 34735-34736, 2009.

SPEMULLI, L. Protein synthesis, assembly and degradation. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (Eds.). *Biochemistry & molecular biology of plants*. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. p. 412-455.

STRECK, E. V.; KÄMPF, N.; DALMOLIN, R. S.; KLAMT, E.; NASCIMENTO, P. C. do; SCHENEIDER, P.; GIASSON, E.; PINTO, L. F. S. *Solos do Rio Grande do Sul*. 2. ed. Porto Alegre: Emater/RS-Ascar, 2008. 222 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TAVARES, F. R.; PICHET, J. A.; MASCHIO, L. M. de A. Alguns fatores relacionados com a estaquia da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). In: CONGRESSO FLORESTAL ESTADUAL, 7., 1992, Nova Prata. *Anais...* Nova Prata: UFSM, 1992. v. 2. p. 626- 640.

VIDOR, M. A.; RUIZ, C. P.; MORENO, S. V.; FLOSS, P. A. Marcadores moleculares em estudos de caracterização de ervamate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.): o sabor. *Ciência Rural*, v. 32, n. 3, p. 415-420, 2002.

VIEIRA, A. R. R.; SUERTEGARAY, C. E. O.; HELDWEIN, A. B.; MARASCHIN, M.; SILVA, A. L. Influência do microclima de um sistema agroflorestal na cultura da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, v. 11, n. 1, p. 91-97, 2003.

VIERSTRA, R. D. Protein degradation in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v. 44, p.385-410. 1993.

WENDLING, I. *Produção vegetativa de erva-mate (Ilex paraguariensis Saint Hilaire): estado da arte e tendências futuras*. Colombo: Embrapa Florestas, 2004. 46 p. (Documentos, 91).

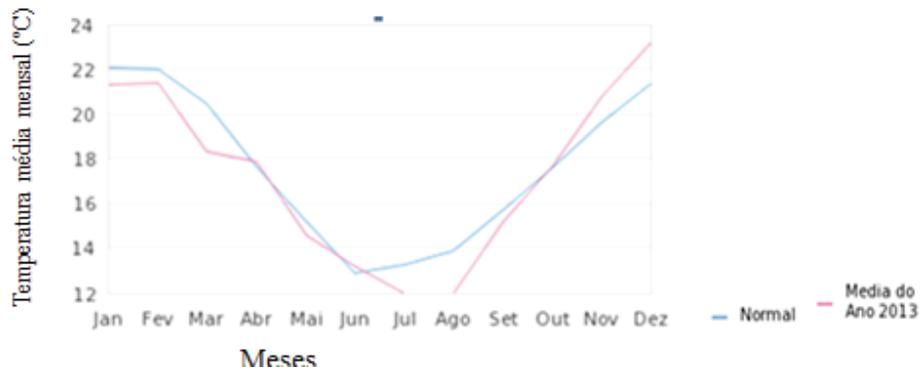
WENDLING, I.; XAVIER, A. Gradiente de maturação e rejuvenescimento aplicado e espécies florestais. *Floresta e Ambiente*, v. 8, n.1, p. 187-94, 2001.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. *Silvicultura clonal: princípios e técnicas*. Viçosa: Ed. UFV, 2009. 272 p.

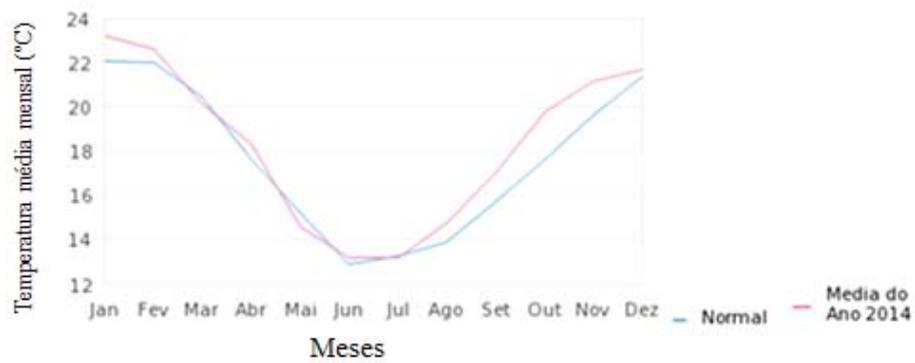
ZANOL, G. C.; FORTES, G. R. de L.; SILVA, J. B. da; C. Â. D.; CENTELLAS, A. Q.; MULLER, N. T.; GOTTINARI, R. A. Escuro e ácido indolbutírico no enraizamento *in vitro* e atividade da peroxidase de porta-enxerto de macieira cv. Marubakaido (*Malus prunifolia*). *Revista Brasileira de Agrociência*, v. 3, n. 1, p. 23-39, 1997.

ZERBIELLI, L.; NIENOW, A. A.; BONAFÉ, M. Propagação de genótipos de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) por estaquia, com e sem tratamento de fitorregulador. In: SIMPÓSIO DE MELHORAMENTO E PROPAGAÇÃO VEGETATIVA DE PLANTAS, 1., 2011, Santa Maria. *Anais...* Santa MARIA: UFSM, 2011. p. 244-250.

APÊNDICES



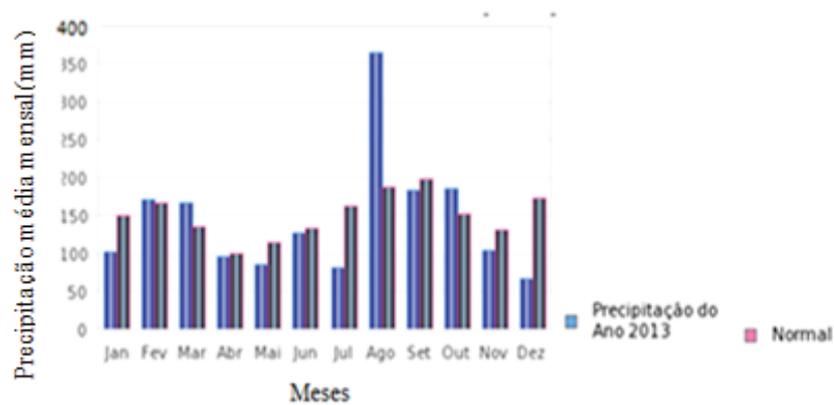
Apêndice 1 – Temperatura média mensal em 2013. Passo Fundo, RS. Fonte: (Embrapa Trigo).



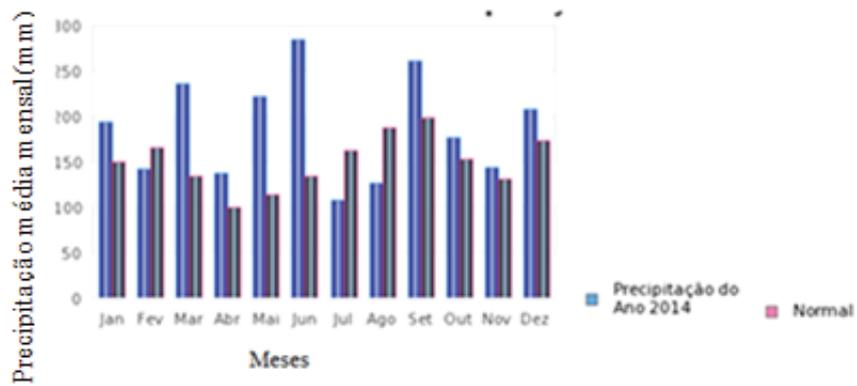
Apêndice 2 – Temperatura média mensal em 2014. Passo Fundo, RS. Fonte: (Embrapa Trigo).



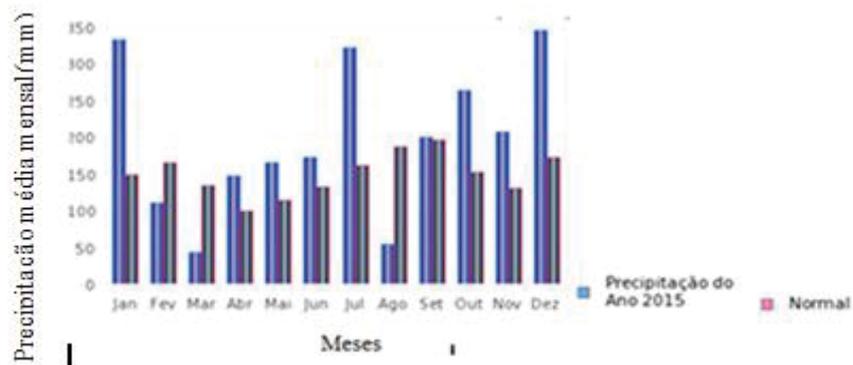
Apêndice 3 – Temperatura média mensal em 2015. Passo Fundo, RS. Fonte: (Embrapa Trigo).



Apêndice 4 – Precipitação média mensal em 2013. Passo Fundo, RS. Fonte: (Embrapa Trigo).



Apêndice 5 – Precipitação média mensal em 2014. Passo Fundo, RS. Fonte: (Embrapa Trigo).



Apêndice 6 – Precipitação média mensal em 2015. Passo Fundo, RS. Fonte: (Embrapa Trigo).